

VERGLEICH DER KINETIK PRIMÄRER
GALLENSÄUREN IN SERUM UND
GALLE MITTELS STABILER ISOTOPEN
BEI GESUNDEN UND BEI PATIENTEN
MIT VERÄNDERTER LEBER- ODER
GALLENWEGSFUNKTION

Franz Michael Sackmann

*Diss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554811_0013

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. G. Paumgartner

VERGLEICH DER KINETIK PRIMÄRER GALLENSÄUREN IN SERUM UND
GALLE MITTELS STABILER ISOTOPEN BEI GESUNDEN UND BEI PATIENTEN
MIT VERÄNDERTER LEBER- ODER GALLENWEGSFUNKTION

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

FRANZ MICHAEL SACKMANN

aus

MÜNCHEN

Jahr

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. G. Paumgartner

Mitberichterstatter:

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. November 1985

Für Scholli

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1 EINLEITUNG	1
2 ZIELSETZUNG	2
3 GRUNDLAGEN	3
3.1 Begriffsbestimmungen und chemische Einordnung	3
3.2 Stoffwechsel primärer Gallensäuren	6
3.3 Enterohepatische Zirkulation (EHC) primärer Gallensäuren	13
3.3.1 Übersicht	13
3.3.2 Exkurs: Historische Entwicklung der Kenntnisse über die EHC von Gallensäuren	16
3.3.3 Teilaspekte	18
3.3.3.1 Intestinale Resorption	19
3.3.3.2 Rücktransport zur Leber	20
3.3.3.3 Hepatozelluläre Aufnahme	21
3.4 "Spill over"	22
4 UNTERSUCHUNG DER KINETIK PRIMÄRER GALLENSÄUREN	26
4.1 Begriffsbestimmungen	26
4.2 Prinzip	27
4.3 Sinnhaftigkeit von Serum-Galle-Vergleichen der Gallensäurekinetik	31
5 BESCHREIBUNG DER STUDIE	33
5.1 Probanden	33
5.1.1 Gesunde Versuchspersonen	34
5.1.2 Patienten	36
5.2 Probengewinnung	39
5.3 Probenverarbeitung	44
5.4 Gaschromatographie (GC)/Massenspektrometrie (MS)/ Isotopenverhältnismessung (IR)	45
6 ERGEBNISSE	51

7 DISKUSSION	59
7.1 Besprechung der Studiendurchführung	59
7.2 Wertung der Ergebnisse	65
7.3 Vergleich mit veröffentlichten Ergebnissen anderer Untersucher	73
7.4 Anwendbarkeit	77
8 ZUSAMMENFASSUNG	82
9 LITERATURVERZEICHNIS	84
DANKWORT	101
LEBENS LAUF	102

1 EINLEITUNG

Untersuchungen des Stoffwechsels von Gallensäuren haben in den letzten zwanzig Jahren zunehmende Bedeutung in Hepatologie und Gastroenterologie gewonnen. Neben den seit langem bekannten Aufgaben der Gallensäuren in der Verdauung von Nahrungsbestandteilen weckte ihre erst in letzter Zeit näher erforschte Bedeutung für die Genese von Gallensteinen, ihre mögliche Rolle bei der Karzinomgenese im Dickdarm und als Abbauprodukt des Cholesterols besondere Aufmerksamkeit. Durch ihre enterohepatische Zirkulation und ihre Verteilung im extra- enterohepatischen Raum stehen vielfältige weitere Wirkungsorte und mögliche Wechselwirkungen mit einer Vielzahl von Stoffwechselprodukten, spezialisierten Zellen, Medikamenten zur Diskussion. Die Erfassung physiologischer Abläufe, pathophysiologischer Veränderungen des Gallensäurestoffwechsels und dessen pathogenetischer Rolle bei verschiedenen Erkrankungen ist dennoch erst unvollständig entwickelt; präventivmedizinische und therapeutische Ansätze befinden sich daher ebenfalls erst in Anfangsstadien. Fortschritte hierbei sind nicht nur von neuen Überlegungen abhängig sondern auch von weiterentwickelten Untersuchungsmethoden. Eine ethisch verantwortbare Forschung am Menschen, die dem Gebot des "nil nocere" Rechnung trägt, erfordert möglichst schonende, physiologische bzw. pathophysiologische Abläufe möglichst wenig beeinflussende Techniken, die dennoch valide und relevante Ergebnisse erbringen können. In diesem Rahmen soll die vorliegende Arbeit einen Baustein bilden.

2 ZIELSETZUNG

Ziel dieser Arbeit ist die Prüfung der Anwendbarkeit einer im medizinischen Bereich neuen, wenig belastenden Methodik zur Untersuchung des Stoffwechsels primärer Gallensäuren nicht nur bei Gesunden sondern auch bei Patienten mit Erkrankungen oder Funktionsveränderungen der Leber bzw. der Gallenwege. Dies könnte dann Grundlage späterer, breiterer Anwendung einer nicht-invasiven Methode sein. Mit der Untersuchung der Gallensäuren in zwei verschiedenen Bereichen ihres Verteilungsraumes im menschlichen Körper soll die Aussagekraft einer neuen Methode (Untersuchung im Serum), die wesentlich einfacher und komfortabler erscheint, mit der herkömmlichen Technik (Untersuchung in Galleflüssigkeit) verglichen werden. Serum ist bekanntlich wesentlich einfacher zu gewinnen als die weit von nicht-invasiven Entnahmeorten fließende Galle. Die gleichzeitige Erfassung von Synthese, Umsatzrate und Poolgröße beider primärer menschlicher Gallensäuren unter weitestgehender Erhaltung physiologischer Abläufe stellt darüberhinaus einen Fortschritt methodischer Möglichkeiten dar. Zur Erfassung des Gallensäurestoffwechsels bei Gesunden und Erkrankten erscheint es sinnvoll, zunächst die beiden im menschlichen Organismus neusynthetisierten Gallensäuren zu untersuchen. Dies wird hier mit Hilfe stabil nicht-radioaktiv markierter Gallensäuren nach dem Prinzip der Isotopenverdünnung durchgeführt.

3 GRUNDLAGEN

3.1 Begriffsbestimmungen und chemische Einordnung

Zur Beschreibung der menschlichen "Galle" wird auf einschlägige Werke verwiesen. Hier soll lediglich die visuelle Differenzierung in frische, goldgelb-bräunlich gefärbte Lebergalle (A-Galle), dunkelbraun-grünlich gefärbte Blasengalle (B-Galle) sowie die nach Sistieren des B-Galle-Flusses wieder fließende C-Galle erwähnt werden (220).

Gallensäuren sind aus Cholesterol gebildete einwertige Hydroxycarbonsäuren, die sich vom Grundgerüst der Cholansäure ($C_{24}H_{40}O_2$) durch die Anzahl der Hydroxylgruppen und die sterische α - oder β -Stellung von H-Atomen unterscheiden. LESTER et al (111) führen kürzlich jedoch die Beobachtung von Gallensäuren mit 20, 22, 23, 27 und 29 C-Atomen oder auch solcher mit zwei Carboxylgruppen im menschlichen Organismus an und stellen fest: "The description of bile acids as a class of cholesterol derivatives with 24 carbon atoms is no longer tenable"; "...the only characteristics held jointly by all compounds commonly referred to as bile acids are that they are steroidal acids with a carboxylic acid group on the side chain". HANSON und PRIES (70) formulieren kürzer: "Bile acids are a group of acidic steroids which are synthesized in the liver from cholesterol." In den Gallenwegen und im Darmlumen liegen Gallensäuren aufgrund ihrer niedrigen Dissoziationskonstanten als Na^+ - oder K^+ -Salze vor, dann als "Gallensalze" bezeichnet (27,70); zumeist wird dieser Begriff jedoch sinngleich mit dem der Gallensäuren verwendet.

"Primäre" Gallensäuren werden die in Leberzellen aus Cholesterol synthetisierten Gallensäuren genannt (27,125). Beim Menschen

sind dies Cholsäure (CA) und Chenodeoxycholsäure (CDCA). Ob darüberhinaus unter pathologischen Bedingungen andere Gallensäuren aus Cholesterol synthetisiert werden (z.B. Lithocholsäure (111)), muß derzeit offen bleiben; sollte sich bestätigen, daß CA auch von Streptomyceten gebildet wird (111), so müßte der Begriff der primären Gallensäure neu eingegrenzt werden.

"Sekundär" werden Gallensäuren genannt, die unter Einwirkung von Enzymen intestinaler Bakterien modifiziert sind. Beim Menschen stellen Lithocholsäure (LCA) und Desoxycholsäure (DCA) wichtige sekundäre Gallensäuren dar, neben mindestens dreißig weiteren seltener vorkommenden (27,121). "Tertiäre" Gallensäuren stellen diejenigen dar, die in der Leber oder auch unter darmbakteriellem Einfluß aus sekundären modifiziert werden (27).

Vor Sezernierung der Gallensäuren aus den Leberzellen erfolgt jeweils vollständig deren "Konjugation" (Säureamidbindung) an der Seitenkette mit einer der beiden Aminosäuren Glycin oder Taurin (27,70,110,125); in der Galle sind daher unter physiologischen Bedingungen nur konjugierte Gallensäuren vorhanden (70, 125), die dann im Darmlumen von bakteriellen dekonjugierenden Enzymen teils wieder in ihre "freie", d.h. unkonjugierte Form übergeführt werden. Im weiteren Verlauf der Arbeit sollen, vereinfachend, die Ausdrücke Gallensäure bzw. -salz teils auch für den freien oder konjugierten Zustand stehen. Die im weiteren verwendeten "trivialen" Bezeichnungen für einzelne Gallensäuren stehen für die entsprechenden systematischen Ausdrücke. Diese Trivialbezeichnungen leiten sich oft von der Spezies oder dem Ort ab, bei der bzw. dem die betreffende Gallensäure erstmals isoliert wurde; zumeist ist diese Abstammung mit altgriechischen Worten beschrieben (12,106) (vgl. Tab. 1).

Zur besseren Verständlichkeit der weiteren Ausführungen sollen

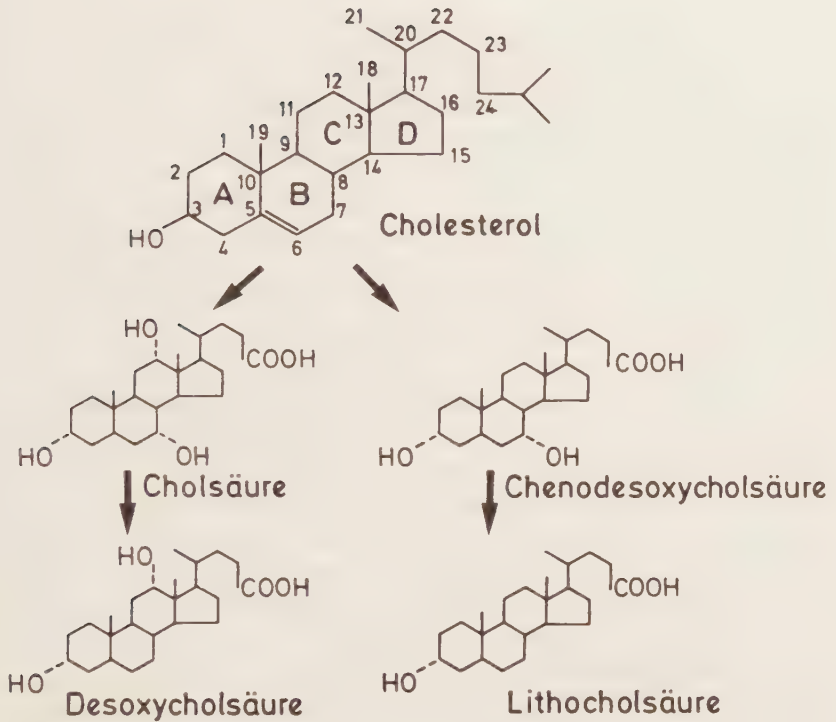
Tab. 1: Trivialnamen, verwendete Abkürzungen, systematische Nomenklatur einiger Gallensäuren
(modif. n.: 12,27,209)

Trivialname	Abkürzung	Systematische Bezeichnung
Cholsäure	CA	3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid
Glykocholsäure	GCA	3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid -N-(carboxymethyl)-amid
Natriumglykocholat	GCA	3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid -N-(carboxymethyl)-amid-sodium salt
Natriumtaurocholat	TCA	3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid -N-(2-sulfo-methyl)-amid-sodium salt
Chenodeoxycholsäure	CDCA	3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid
Lithocholsäure	LCA	3 α -hydroxy-5 β -cholan-24-oic acid
Ursodeoxycholsäure	UDCA	3 α , 7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid
Deoxycholsäure	DCA	3 α , 12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid

hier die Primärstrukturformeln der beiden primären Gallensäuren, ihrer biosynthetischen Vorstufe, des Cholesterols, sowie zweier wichtiger sekundärer Gallensäuren aufgezeigt werden (Abb. 1). Eine eingehendere Charakterisierung chemischer oder physikalisch-chemischer Eigenschaften erscheint für das weitere Verständnis nicht erforderlich; es wird hierzu auf einschlägige Arbeiten und Übersichten verwiesen (z.B.: 12,27,104,110,121).

3.2 Stoffwechsel primärer Gallensäuren

Beim Menschen werden die beiden primären Gallensäuren CA und CDCA, soweit bekannt, ausschließlich in der Leber aus Cholesterol in mehreren enzymatischen Schritten gebildet (Abb. 2; vgl. auch: 70,110,121,125). Die Syntheserate unterliegt einer Autoregulation durch die via Portalblut (s.u.) zur Leber gelangende Menge an Gallensäuren (18,20). Diese feed-back-Kontrolle erfolgt durch Beeinflussung der Aktivität geschwindigkeitsbestimmender Enzyme der Cholesterol- und Gallensäuresynthese (HMG-CoA-Reduktase bzw. 7 α -Hydroxylase (12,27,88)). Einzelne Gallensäuren scheinen hierbei unterschiedlich starke modulierende Wirkung auszuüben: CDCA kann die CA-Synthese hemmen (31), wie auch vice versa (121); DCA hemmt in hoher Dosis die CA-Synthese (121), in niedrigerer die von CDCA (147); UDCA kann beider Synthese hemmen (121); konjugierte primäre Gallensäuren üben einen stärkeren hemmenden Effekt aus als freie (151,156); CA und CDCA unterdrücken die eigene Synthese jeweils stärker als diejenige der anderen primären Gallensäure, wobei dieser Effekt für CDCA stärker ausgeprägt ist (156). MATERN und GEROK (121) meinen daher: "In any case, the results indicate that different primary and secondary bile acids have different effects on biosynthesis of bile acids."



-- OH = Hydroxylgruppe in sterischer α -Stellung

A - D = Ring-Bezeichnung

1 - 24 = Numerische Kennzeichnung der C-Atome

Abb.1: Primärstrukturformeln wichtiger Gallensäuren und ihres Vorläufers, des Cholesterols, im Stoffwechselverlauf geordnet

Auch derzeit sind die Syntheseschritte der primären Gallensäuren (Abb.2) noch nicht vollständig gesichert (27,70). Insbesondere werden neben den bekannten Stoffwechselwegen (20,27,121) auch alternativ mögliche Schritte diskutiert (70,195,209), deren Wertigkeit noch nicht ausreichend abschätzbar ist: Beispielsweise wird neben Cholesterol auch dessen Vorstufe Desmosterol oder 7-Dehydrocholesterol als evtl. möglicher Gallensäurenpräkursor beschrieben (12). KEMPEN et al (96) werfen die Frage auf, ob nur neusynthetisiertes Cholesterol oder auch solches aus der Zirkulation als Vorstufe in Frage kommt.

Die Biosynthese primärer Gallensäuren aus Cholesterol wird eingeleitet durch eine Hydroxylierung (mischfunktionelle Oxidase des glatten endoplasm. Reticulum: 7 α -Hydroxylase (mit Cofaktor NADPH)), die als geschwindigkeitsbestimmender Schritt und Angriffspunkt der Autoregulation (s.o.) gilt und einer Aktivitäts-Tagesrhythmik unterliegt (36,38,70). Es folgt Oxydation und Isomerisation zum Ausgangssubstrat entweder der CA- oder der CDCA-Bildung, dem 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one (27,69,70). In Richtung CA katalysiert die 12-Hydroxylase, ein ebenfalls im glatten endoplasmatischen Reticulum lokalisiertes Enzym ohne erkennbare Tagesrhythmik (70), worauf die 3-Ketogruppe durch im Cytosol lokalisierte Enzyme reduziert wird (27). Unter Abspaltung einer Isopropylgruppe durch mitochondriale Enzyme entsteht CA. Zu CDCA führt der Reaktionsweg über eine Reduktion und konsekutive C₂₆-Hydroxylierung sowie Oxidation zum Endprodukt.

Die entstehenden primären Gallensäuren sind deutlich polarer als ihr Ausgangssubstrat Cholesterol. Die hierfür verantwortlichen Hydroxylgruppen kommen sterisch auf einer Molekülseite zur Anordnung und bilden dessen hydrophile Seite, der eine hydrophobe, lipophile Seite gegenübersteht (Abb.3). Diese amphiphile Struktur der Gallensäuren spielt eine entscheidende Rolle für deren Aufgabe als Detergens (27).



Abb. 2: Stoffwechselschritte bei der Synthese der beiden primären Gallensäuren (Cholsäure und Chenodeoxycholsäure) aus Cholesterol (modifiziert nach: 12,27,70,121,125,209)

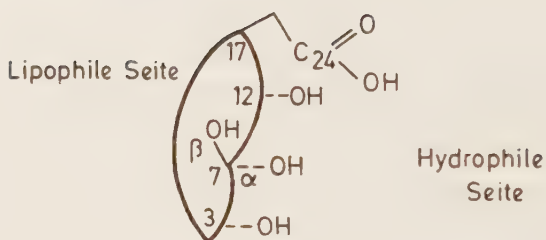


Abb. 3: Amphiphile Struktur der Gallensäuren
(modifiziert nach: 27)

Bevor die neusynthetisierten Gallensäuren aus den Hepatocyten in die Gallenkanaliculi abgegeben werden, erfolgt eine Konjugation mittels Säureamidbindung am C₂₄ mit einer der beiden Aminosäuren Glycin oder Taurin; diese Verbindung wird auch für alle die Leberzellen erneut durchquerenden Gallensäuren beschrieben (12,27,70,110). Zur Frage, warum eine Konjugation gerade mit o.e. Aminosäuren erfolgt, berichten HUIJGHEBAERT et al (87) kürzlich über die interessante Beobachtung einer evtl. besseren Resistenz gegenüber Pankreasenzymen der mit Glycin bzw. Taurin gekoppelten Gallensäuren. Die Verbindung mit einer Aminosäure erfolgt über die Bildung einer energiereichen Verbindung der Gallensäure mit CoA in Mikrosomen, Aminosäureanlagerung unter Katalyse der N-acyl-Aminotransferase (12,121) und wird als vollständig für alle in Gallekanaliculi sezernierten Gallensäuren beschrieben (17). Eine Tagesrhythmik beteiligter Enzyme ist ebenfalls bekannt (101). Unter physiologischen Verhältnissen wird Glycin:Taurin etwa im Verhältnis 3:1 verwendet (64,70,121). Ob dieses Verhältnis vom unterschiedlichen Aminosäureangebot, differenter Enzymaffinität (70) oder diätetischen bzw. hormonellen Einflüssen (20) abhängt, muß derzeit wohl offen bleiben.

Die Konjugation bewirkt eine deutlich verbesserte Wasserlöslichkeit der Gallensäuren über einen größeren pH-Bereich hinweg als sie die freien Gallensäuren zeigen (27); taurinkonjugierte Gallensäuren sind im Vergleich zu glycinkonjugierten noch wasserlöslicher (27).

Eine Sulfatierung der Gallensäuren in den Hepatocyten spielt physiologischerweise beim Menschen eine untergeordnete Stoffwechselrolle, vielleicht abgesehen von LCA (27,70). Eine Sulfatierung an den Hydroxylgruppen erhöht die Polarität der betreffenden Gallensäure und reduziert dadurch deren Resorption aus dem Darmlumen (s.u.) und führt zu einer vermehrten fäkalen Exkretion im Sinne einer Detoxifizierungsreaktion (70).

Auch die Glucuronidierung von Gallensäuren stellt nur bei pathophysiologischen Stoffwechselzuständen einen quantitativ wichtigen metabolischen Schritt dar (60,121). Unter solchen Umständen können dann evtl. weitere Stoffwechselwege zum Tragen kommen, die u.U. auch außerhalb der Leber in anderen Organen wie z.B. der Niere aktiviert werden.

Neben dem bisher geschilderten hepatischen Metabolismus unterliegen Gallensäuren dem Einfluß von Enzymen der Darmbakterien, durch den aus den primären die sekundären (s.o.) Gallensäuren gebildet werden. Außer einer Dekonjugation, also einer Abspaltung der Aminosäuren, findet hier auch eine Dehydroxylierung in 7~~α~~-Stellung statt. Weiterhin sind Oxydation in 3~~α~~,7~~α~~-, oder 12~~α~~-Position, erneute Reduktion der entstandenen Keto-Gruppen und Epimerisationen beschrieben (12,121). Eine aktuelle Übersicht hierzu bieten MACDONALD et al (116). Voraussetzung für eine Metabolisierung der Gallensäuren im Darmlumen scheinen Populationsdichten von mehr als $10^4/\text{mm}^3$ Mikroorganismen und das Vorhandensein obligater Anaerobier zu sein (121). Diese physiologischen Voraussetzungen sind im menschlichen Dünndarm im termina-

len Ileum erfüllt (197). Überwiegend liegen die Gallensäuren daher im Dünndarm bis hin zum terminalen Ileum in konjugierter Form vor; erst von diesem Darmabschnitt an und distalwärts erfolgen hauptsächlich die beschriebenen Reaktionen (27,197). Je Darmpassage werden etwa 20% der glycin- und 10% der taurinkonjugierten Gallensäuren dekonjugiert (12,27). Durch die beschriebenen enzymatischen Schritte entsteht aus der (primären) CA als sekundäre Gallensäure DCA, aus CDCA die LCA (27,197). Nur unter bestimmten Voraussetzungen erscheint eine Dehydroxylierung ohne vorausgegangene Dekonjugation möglich (73). Einige strikt anaerobe Keime sind in der Lage, über 7-keto-Gruppen-Bildung 7 α -hydroxylierte Gallensäuren zu bilden, wie z.B. UDCA, die dann tertiäre Gallensäuren darstellen (s.o.). Neben dem metabolisierenden Einfluß von Enzymen der Darmbakterien können diese Keime ihrerseits durch die Gallensäuren beeinflusst werden: "Bile acids, particularly the dihydroxy-cholanoic acids are bacteriostatic against certain intestinal bacteria ... It must be expected therefore, that both composition and concentration of bile acids in the gut influence the flora selectively" (116, vgl. auch 56,164). Die Mehrzahl der im Darm gebildeten freien Gallensäuren wird aus dem Darmlumen resorbiert und zur Leber rücktransportiert, wo sie erneut konjugiert werden (s.u.). Die nicht resorbierte Menge wird mit den Faeces ausgeschieden.

Die beiden aus den hier untersuchten primären Gallensäuren CA und CDCA entstehenden sekundären Gallensäuren DCA und LCA werden auf unterschiedlichen Wegen weiter verstoffwechselt: DCA wird zu 30-50% (27,74) aus dem Darmlumen resorbiert und zur Leber rücktransportiert, der nicht resorbierte Anteil mit den Faeces teils in weiter metabolisierter Form (27) ausgeschieden; er übt im Colon Einfluß auf Wasser- und Elektrolytsekretion, Motilität und Zellproliferation (212) aus. LCA hingegen wird nur zu etwa 20% rückresorbiert (27). Nach ihrem Rücktransport und ihrer Wiederaufnahme in die Leberzellen werden DCA und LCA erneut konjugiert,

jedoch nicht re-hydroxyliert (74) und in die Gallenwege sezerniert. Etwa 80% der konjugierten LCA werden zusätzlich in den Hepatocyten an der 3-Hydroxylgruppe sulfatiert, wobei glycinkonjugierte stärker als taurinkonjugierte LCA dieser Reaktion untersteht (27); physiologischerweise stellt diese Sulfatierung den einzigen wichtigen derartigen Stoffwechselschritt dar. Neben LCA wird im Intestinum aus CDCA auch 7-keto-LCA gebildet und hieraus dann UDCA. Möglicherweise (27) kann 7-keto-LCA auch unmodifiziert resorbiert und zur Leber rücktransportiert werden, dort zu CDCA und UDCA reduziert, erneut in die Gallenwege sezerniert und intestinal wieder zu LCA verstoffwechselt werden; UDCA und CDCA wären hierbei gegenseitig Vorläufer und Produkt.

3.3 Enterohepatische Zirkulation (EHC) primärer Gallensäuren

3.3.1 Übersicht

Zur Begriffsbestimmung der enterohepatischen Zirkulation (EHC) sei auf die Definition von DOWLING verwiesen: "Any substance secreted in bile which is reabsorbed from the intestine and returns to the liver to appear once again in bile may be said to undergo an enterohepatic circulation (EHC)" (36).

Beim gesunden Menschen werden etwa 0.2-0.6g primäre Gallensäuren täglich aus Cholesterol neusynthetisiert und (zusammen mit den aus Portal- und systemischem Blut aufgenommenen, s.u.) in die Gallekanälchen abgegeben. Im Nüchternzustand werden sie größtenteils in der Gallenblase gespeichert. Nahrungsübertritt vom Magen ins Duodenum stimuliert via Cholecystokininfreisetzung Gallenblasenkontraktion(en), wodurch die gespeicherten Gallensäuren über Choledochus und Papilla Vateri in den Darm freige-

setzt werden. Nach der hier erfolgenden (partiellen) Metabolisierung (s.o.) werden mehr als 95% der Gallensäuren rückresorbiert und im Portalblut zur Leber rücktransportiert (s.u.). Der nichtresorbierte Anteil von etwa 0.2-0.6g/Tag, der die neu-synthetisierte Menge ausgleicht, wird mit den Faeces ausgeschieden. Die im Portalblut zur Leber zurückgelangenden Gallensäuren werden in hohem Prozentsatz schon während des ersten Kontaktes mit Hepatocyten von diesen aufgenommen, verstoffwechselt (s.o.), transzellulär transportiert und erneut in die Gallenkanaliculi ausgeschieden, womit der enterohepatische Kreislauf geschlossen ist (Abb.4). Der nicht im first-pass-Schritt von den Leberzellen aufgenommene Gallensäurenanteil gelangt über Lebervenen ("spill over", s.u.) in die systemische Zirkulation und zirkuliert damit extra-enterohepatisch (extra-enterohepatic circulation = EEHC).

Die enterohepatische Zirkulation der Gallensäuren und ihr Weg in die extra-enterohepatischen Bereiche soll zur besseren Erläuterung schematisch dargestellt werden (Abb.4).

Aus der systemischen Zirkulation können sich Gallensäuren in weitere Räume verteilen; physiologischerweise wird nur ein sehr geringer Anteil der systemisch zirkulierenden Gallensäuren über die Nieren ausgeschieden (≤ 0.5 mg/Tag); die Gallensäuren können aus der systemischen Zirkulation beim Leberdurchfluß (arterielle Leberversorgung) erneut von den Hepatocyten aufgenommen und so erneut der EHC zugeführt werden. In der EHC befinden sich stets ca. 3g Gallensäuren, was dem weitaus größten Teil des Gesamtgallensäurepools des Körpers entspricht; dieser Pool zirkuliert etwa 4-10mal täglich, woraus sich eine tgl. Sekretionsmenge aus den Leberzellen in die Gallekanälchen von etwa 12-36g ergibt (Angaben in Anlehnung an CAREY (27); vgl. ansonsten Übersichten wie 41,80,81,176). Mittels der EHC wird somit ein kleiner Pool von organischen Substanzen durch vielfache tägliche Zirkulation

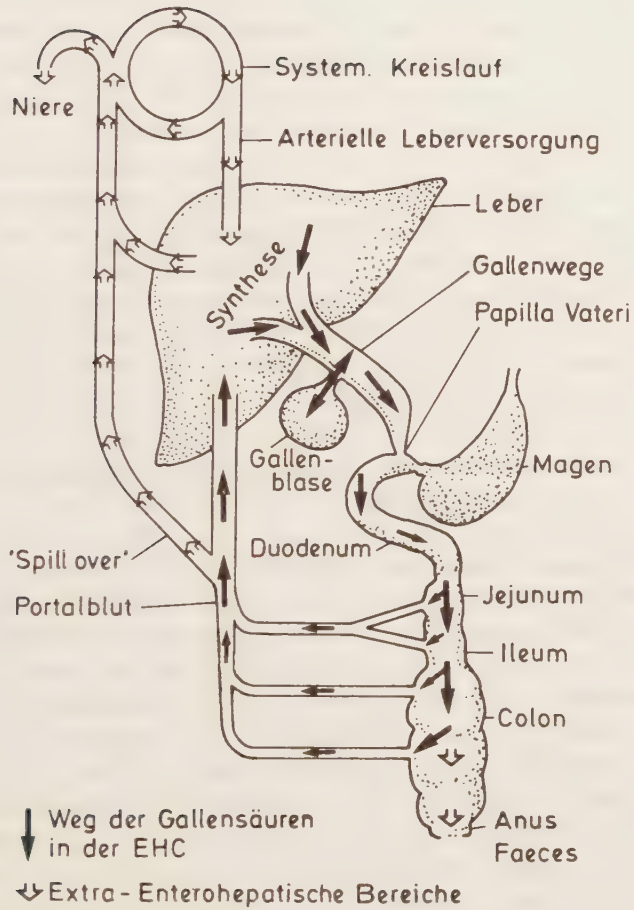


Abb. 4: Schematische Darstellung der enterohepatischen Zirkulation (EHC) der Gallensäuren und ihre extra-enterohepatischen Wege

mehrfach seinen Aufgaben an den verschiedenen Wirkungsorten gerecht; dies stellt einen für den Organismus höchst ökonomischen Mechanismus dar. Auf die mechanischen und chemischen Pumpvorgänge, Transportmechanismen, physiologischen Abläufe, in die die EHC der Gallensäuren eingebettet ist, soll hier, eher beispielhaft, nur mit wenigen ausgewählten Aspekten eingegangen werden, die insbesondere für den Zusammenhang dieser Arbeit wichtig erscheinen, nämlich die intestinale Resorption, den portalen Rücktransport, die Aufnahme in die Leberzellen und den "bypass" hieran vorbei in die systemische Zirkulation, den spill over. Vorangestellt sei, als Exkurs, ein kurzer Abriß der historischen Entwicklung der Kenntnisse über die EHC der Gallensäuren.

3.3.2 Exkurs: Historische Entwicklung der Kenntnisse über die EHC von Gallensäuren

Erste Erkenntnisse über eine Zirkulation von Gallensäuren werden BORELLI, einem neapolitanischen Mathematiker, zugeschrieben (n. 27). Weitere frühe Berichte finden sich um 1740, etwa hundert Jahre später, bei BIANCHI (n. 178) und BARRY (n. 27). PETTENKOFER ist somit nicht der erste Naturwissenschaftler, der 1844 erkennt, "...daß der Gallenfarbstoff mit den Faeces entleert, die Galle selbst hingegen resorbirt wird..." (144). Daß diese Resorption gelegentlich gestört sein kann, beschreibt er bereits treffend: "Bei jeder Diarrhoe findet sich Galle im Stuhle. Wie wichtig diese Thatsache für die Pathologie und Therapie ist, erhellt sich von selbst" (144). HOPPE-SEYLER berichtet 1866 "Ueber die Schicksale der Galle im Darmkanale" (85). Nur vier Jahre später zeigt SCHIFF (169), "...daß...mit Gallefisteln die Quantität der abgesonderten Galle weit unter die normale herabsinkt, wenn das Lebersekret ganz nach außen abgeleitet wird und nicht mehr im Darne zur Aufsaugung gelangt. Hin-

gegen ist die Menge der abgesonderten Galle ... wieder vermehrt und nähert sich allmählig der normalen, wenn man den Inhalt der Gallenblase von Neuem dem Darne zuführt, um ihn dort zur Aufsaugung zu bringen" (169). Weiterhin beschreibt SCHIFF, daß "...die Galle...durch Aufsaugung ins Blut übergehen konnte, um dort allem Augenschein nach als Material für die Speisung der Lebersekretion verwendet zu werden", "...daß also hier ein Vorgang stattfindet, der einigermaßen dem Kreislauf des Materials ...zu vergleichen ist..." (169). TAPPEINER erkennt 1878 das Ileum als Hauptresorptionsort der Gallensäuren (n. 91).

TSCHERNOFF beschreibt wenig später eine wichtige Funktion des Gallensäurekreislaufs: "Das Fett wird aufgesogen...und mit großer Wahrscheinlichkeit in Form einer besonderen chemischen Verbindung...mit den Gallensäuren" (201). STADELMAN führt an, daß "...die Concentration der Gallensäuren...normaler Weise nur eine äußerst geringe im Blute sein" könne, weiterhin "...daß die per os eingeführten Gallensäuren...innerhalb 12 bis höchstens 24 Stunden schon wieder durch die Leber ausgeschieden sind" (178). Erste detaillierte Angaben über die Zusammensetzung menschlicher Galle sind WIELAND (216) zu entnehmen. JOSEPHSON kann 1944 CA im Blut "...with an average error of less than $\pm$ 10 per cent" nachweisen; er verwendet hierzu "...nothing but a far-going modification of the old Pettenkofer...test..." (91). Er beschreibt übersichtlich und auf modernem Erkenntnisstand die "Entero Hepatic Circulation", führt eine Zirkulationsfrequenz von etwa 3x tgl. an und findet bei Cholestase im Blut und im Urin deutlich vermehrt Gallensäuren; ein Gleichgewicht zwischen Synthese und Exkretion bzw. Elimination ist in dieser Arbeit ebenfalls bereits erwähnt: "...equilibrium is maintained by synthesis of bile acids paralleling the rate of fecal losses" (91). SCHWIEGK (171) findet eine zeitliche Abfolge von vermehrter Leberdurchblutung und konsekutiv erhöhtem Gallefluß, was auch von JOSEPHSON zitiert wird; letzterer verwendet die Clearance intravenös inji-

zierter CA wohl erstmals als "cholic acid tolerance test" zur Charakterisierung der Leberfunktion. Hier schließen Arbeiten von HORAK (86) und KORMAN (102) an. THUREBORN (200) beschäftigt sich insbesondere mit Funktion und Steuerung der Gallenblase. HEATON (72) meint sieben Jahre später, daß der Gallensäurepool bis zu zweimal je Mahlzeit zirkuliere, insgesamt bis zu achtmal tgl.; zu jedem Zeitpunkt befinden sich seiner Meinung nach bis zu 99% des Gesamtpools der Gallensäuren in der EHC. SMALL et al (176) geben 1972 einen guten Überblick über die EHC; sie heben hervor, daß sich die EHC zwar nicht in einem von Minute zu Minute ausgeglichenen Zustand befindet, über einen Zeitraum von Tagen hinweg aber die wesentlichen Parameter der EHC wie Poolgröße, Syntheserate und Sekretion weitestgehend konstant gehalten werden, wenn sich der Organismus auch sonst in ausgeglichenem Zustand befindet. Neuere Übersichten über die EHC der Gallensäuren geben beispielsweise CAREY (27), DOWLING (36), HOFMANN (79,80,81), PAUMGARTNER (142). HOFMANN et al berechnen computergestützt erstmals wichtige Flußgrößen der EHC zusammenhängend im Modell (82). REDINGER et al (155,156) zeigen beim Primaten in anschaulicher Weise, wie verschiedene Störgrößen der EHC ausgeglichen werden, um eine Aufrechterhaltung der Homöostase zu gewährleisten; insbesondere die Gallensäuresynthese wird über weite Bereiche hin möglichst konstant gehalten.

3.3.3 Teilaspekte

Im folgenden Abschnitt seien die für hier relevante Probleme wichtigen Abschnitte der EHC, die intestinale Resorption, der portale Rücktransport zur Leber, die hepatocelluläre Aufnahme sowie der "spill over" in die systemische Zirkulation noch etwas näher beschrieben; Fragen des trans-hepatocellulären Transportes, der Freisetzung in die Gallenwege, der Darmpassage etc.

seien hier nicht weiter erörtert unter Hinweis auf diesbezügliche Arbeiten (21,32,47,48,50,57,59,90,95,130,131,135,140,141,149,163,167,168,177,214,222).

3.3.3.1 Intestinale Resorption

Wichtige Untersuchungen zur intestinalen Resorption von Gallensäuren führen KRAG und PHILLIPS (103) 1974 durch: Sie finden für CDCA, G-CDCA und TCA eine aktive Resorption im Ileum, wobei unkonjugierte CDCA schneller als G-CDCA, TCA jedoch noch etwas schneller resorbiert wird. Für freie Gallensäuren zeigen die Autoren eine im Jejunum neunmal höhere passive Permeabilität als im Ileum, wobei freie CDCA als Dihydroxy-Gallensäure eine im Vergleich zu freier CA (Trihydroxy-Gallensäure, s.o.) dreifach höhere Permeabilität aufweist; pH-Wert-Veränderungen zeigen in gewissem Bereich keinen Einfluß auf diese Mechanismen. Die Gallensäureresorption im terminalen Ileum wird von dieser Gruppe deshalb als aktiver Prozeß beschrieben, weil sie gegen einen Konzentrationsgradienten verläuft, durch Hypoxie oder andere Stoffwechselhemmung unterdrückbar ist, ein Sättigungsphänomen aufweist, eine kompetitive Hemmung für die Gallensäuren untereinander beobachtbar ist, und darüberhinaus der Transport Na^+ -abhängig verläuft. Demgegenüber besteht im Jejunum ein passiver Transportmechanismus mit ionischer bzw. nicht-ionischer Diffusion, die entsprechend des elektrochemischen Gradienten verläuft; der relative Anteil ionischer bzw. nicht-ionischer Diffusion hängt ab vom intraluminalen pH und dem pK_a der Gallensäuren. Für praktische Belange ausreichend genau ist die Feststellung, daß die nicht-ionische Diffusion den weitaus größeren Anteil hierbei trägt (27). KRAG und PHILLIPS (103) fassen zusammen, daß alle natürlich vorkommenden Gallensäuren aktiv im Ileum resorbiert werden, daß für unkonjugierte zusätzlich die passive Resorption im Jejunum eine wesentliche Rolle spielt. Glycinkonjugierte Gallensäuren werden rascher als taurinkonjugierte trans-

portiert (71). Versuche von DANZINGER et al (31) zeigen, daß die Resorptionskapazität normalerweise weit im ungesättigten Bereich arbeitet; bis zu 1g oral verabreichter CDCA fanden sich innerhalb 24h resorbiert zu 80-90%; PONZdeLEON et al (149) finden freie CDCA bereits 40min nach oraler Gabe bis zu 90% resorbiert, was auch andere Arbeiten bestätigen (z.B. 15). ANGELIN et al meinen auch in proximaleren Dünndarmabschnitten zumindest für Dihydroxygallensäuren eine beachtliche Resorption feststellen zu können (5,6). WILSON (219) gibt einen aktuellen Überblick über vorliegende Erkenntnisse über die Gallensäureresorption. HOFMANN (81) faßt zusammen: "Some passive absorption of the more lipophilic bile acids occurs throughout the intestine, but the majority of bile acids reach the terminal ileum, where an active transport process efficiently extracts the bile acids from the luminal contents; more than 90 per cent of the bile acids secreted with a meal are reabsorbed by the small intestine".

3.3.3.2 Rücktransport zur Leber

Nach ihrer Resorption werden die Gallensäuren zumeist albumin- (121,157) oder evtl. auch lipoproteingebunden (12) im Portalblut zur Leber rückgeführt; ein Abfluß über Lymphbahnen wird als vernachlässigbar gering angesehen (27,54,121,132). Der portale Blutfluß kann periodisch schwanken (171), Werte von 500ml/min (27) bis 1200ml/min (42,63) werden angegeben. Die durchschnittliche Gallensäurenkonzentration im Portalblut beim Menschen wird mit etwa 20µmol/l angenommen (27,81), HOLZBACH (83) erwähnt 40-50µmol/l. CAREY (27) errechnet einen durchschnittlichen stündlichen Gallensäurefluß zur Leber von etwa 600µmol bei einem Blutfluß von 500ml/min. Die relative Verteilung der Gallensäuren im Portalblut wird im Vergleich zu B-Galle mit

ähnlichen Prozentwerten angegeben (11), evtl. liegt ein erhöhter CDCA-Anteil vor (1). Im Vergleich zu peripher-venösem Blut sind die Gallensäurekonzentrationen im Portalblut bis zu 6-fach höher (1,11,55). Eine Schwierigkeit von Untersuchungen der Gallensäuren im Portalblut beim Menschen liegt im äußerst schwierigen Zugang zu diesem Abschnitt der EHC, was breitere Studien hierzu nicht ermöglicht.

3.3.3.3 Hepatozelluläre Aufnahme

In den Lebersinusoiden mischt sich portalvenöses Blut mit dem Zustrom aus systemischer Zirkulation (12,42,213); der arterielle Leberzufluß wird mit ca. 500ml/min angegeben (42), hinzu kommt o.g. portaler Anteil. Während einer Leberpassage werden etwa 90% CA, 75-80% CDCA und DCA sowie 35-60% UDCA (55) von den Hepatocyten aufgenommen (27). Arbeiten von O'MAILLE et al (133) zeigen für konjugierte Gallensäuren eine jeweils bessere Leberzellaufnahme als für freie, was auch von anderen Untersuchungen bestätigt wird (2,39,55,58). REICHEN und PAUMGARTNER (157) finden für T-CA bei isoliert perfundierten Rattenlebern eine Michaelis-Menten-Kinetik der hepatocellulären Aufnahme, die physiologischerweise weit unterhalb einer Sättigung arbeitet; dies bestätigt auch GLASINOVIC (66). Somit ist die Aufnahme in die Leberzellen nicht als der geschwindigkeitsbestimmende Schritt des transhepatocellulären Gallensäuretransportes anzusehen (121,157). In einer weiteren Arbeit wird die Gültigkeit o.e. Aussagen auch für freie CA bzw. CDCA gezeigt (158) und zusammengefaßt: "...bile acids are removed from the portal circulation by a remarkably efficient transport system exhibiting a high affinity to both conjugated and unconjugated bile acids and a maximal transport capacity exceeding that reported for ileal transport..." (158). Wenn auch in letzter Zeit eine

funktionelle Inhomogenität der Hepatocyten entlang eines Sinusoids hervorgehoben wird, so meinen FORKER und LUXON (59) kürzlich doch, daß eine einfache Michaelis-Menten-Kinetik zur Beschreibung der hepatocellulären Gallensäureaufnahme ausreicht. CAREY (27) erwähnt eine Abhängigkeit der Aufnahme von der Polarität der Gallensäuremoleküle sowie eine umgekehrte Proportionalität zur Stärke der Albuminbindung der Gallensäuren (vgl. auch 2). Die Bedeutung der elektrischen Ladung der Molekülseitenkette heben O'MAILLE et al (134) hervor. Van DYKE et al (39) unterscheiden einen Na^+ -abhängigen Aufnahmemechanismus für CA, T-CA, G-CA und G-CDCA von einer einfachen Diffusion, wie sie sie in Rattenleberzellkulturen beobachten.

3.4 "Spill over"

Ein gewisser Anteil (s.o.) der im Portalblut zur Leber zurückströmenden Gallensäuren wird nicht im first-pass-Schritt von den Hepatocyten aufgenommen; dieser Anteil gelangt, sozusagen im Bypass, via Lebervenen in die systemische Zirkulation: "A small fraction spills over into the peripheral blood" (81). In Abb. 4 ist dieser "spill over" schematisch dargestellt. Abhängig ist der spill over von Gallensäuren vom portalvenösen Zustrom zur Leber, der hepatocellulären, für einzelne Gallensäuren differenten Aufnahmeleistung und der venösen Leberdrainage. Ein zusätzlicher möglicher Einfluß ist durch die mit systemischer Zirkulation im arteriellen Leberzustrom erneut in die Lebersinusoiden gelangenden Gallensäuren möglich. Nimmt man den venösen Leberabfluß als regelrecht an, so kann gefolgert werden: "The level of bile acids in peripheral blood always represents the instantaneous balance between intestinal absorption and hepatic uptake" (81). Ausgeschlossen bzw. vernachlässigbar gering muß bei diesen Betrachtungen ein Reflux

von Gallensäuren aus den Leberzellen zurück in die venöse Leberdrainage sein (vgl. hierzu: 27,29,121,165). Im venösen Blut lassen sich dann Gallensäuren in Konzentrationen von 0.001 - 0.006mM bestimmen (27,81,121). Arteriellcs Blut enthält Gallensäuren in gleicher Konzentration und Zusammensetzung (1,27). Die in die systemische Zirkulation gelangten Gallensäuren, die sich damit extra-enterohepatisch befinden, können von dort in weitere Verteilungsräume gelangen wie z.B. Haut oder Ascites oder andere Organe. Aus dieser extra-enterohepatischen Zirkulation (EEHC) können Gallensäuren bei erneutem Leberdurchstrom durch Aufnahme von den Hepatocyten wieder in die EHC eingeschleust werden. Andererseits können sie auch via Nieren direkt aus der EEHC eliminiert werden (s.o.); theoretisch wären neben den Nieren noch andere Ausscheidungswege aus der EEHC möglich wie z.B. Haut oder Atmung, die jedoch keine Rolle hierfür spielen, soweit bisher bekannt. Die Menge an Gallensäuren in der systemischen Zirkulation wird demnach bestimmt vom spill over aus dem Portalblut, der Elimination aus dem systemischen Kreislauf via hepatozellulärer Aufnahme bei erneutem Leberdurchfluß und durch Ausscheidung über die Nieren; darüberhinaus spielt die Verteilung in weitere Räume aus der EEHC hinaus und die hieraus schnelle oder langsame Rückverteilung in die EEHC (mit konsekutiv möglicher erneuter Einschleusung in die EHC) hierfür eine Rolle.

Aus dem Erwähnten ergibt sich, daß Gallensäuren in ihren Konzentrationen im Blut bzw. Serum starken interindividuellen aber auch intraindividuellen Schwankungen unterliegen können. Für interindividuelle Vergleiche können dennoch "Normbereiche" der Serumgallensäurekonzentrationen festgelegt werden, die auch als Grundlage für in letzter Zeit an Bedeutung gewinnende Leberfunktionstest dienen (z.B.:120): Ist beispielsweise im Rahmen zirrhotischer Leberveränderungen der spill over vermehrt,

können erhöhte Gallensäurekonzentrationen im Serum bestimmt werden (120); zugrundeliegend könnte ein erhöhtes portal-systemisches shunt-Volumen sein (123), welches zu vermehrtem Gallensäurenübertritt in den systemischen Kreislauf führt, da ja (s.o.) die Aufnahmekapazität der Hepatocyten weit unter ihrem Maximum arbeitet. Neben Konzentrationsbestimmungen im venösen Serum kann auch der Gallensäurekonzentrationsanstieg nach oraler oder intravenöser Verabreichung als sog. Gallensäure-Toleranz-Test zur Charakterisierung der Leberzellfunktion herangezogen werden (z.B.: 65,115), wozu jedoch einschränkend festzustellen ist: "Various bile acid tolerance tests have been developed to assess liver function, but they have only been partly successful" (123); wichtigster Faktor für diese Einschränkung sind die intraindividuellen Konzentrationsschwankungen, welche sich aus Enzymaktivitätsschwankungen (s.o.), Pumpvorgängen, Gallenblasenkontraktionen, Gallensäureverteilung in der EHC und dem durch diese Faktoren modifizierten spill over ins venöse Blut ergibt; insbesondere die Rhythmik der Nahrungsaufnahme mit den konsekutiven Gallenblasenkontraktionen (vgl. oben) und hierdurch vermehrter intestinaler Resorption, portal-venösem Anstrom von Gallensäuren zur Leber und vermehrtem spill over bedingt deutliche postprandiale Anstiege der Gallensäurekonzentrationen (vgl. hierzu z.B.: 80,107,108). Aufgrund der leichten technischen Durchführbarkeit (z.B. enzymatisch) stellen Serumgallensäurekonzentrationsbestimmungen dennoch einen bei kritischer Betrachtung brauchbaren Untersuchungsschritt zur Leberfunktionsdiagnostik dar.

Hier soll noch erwähnt werden, daß lange fraglich erschien, ob aus relativen Konzentrationen der Gallensäuren im Serum auf deren Verteilung in der Galle geschlossen werden kann (88), WHITING und WATTS (215) jedoch meinen dies bestätigen zu können.

Die mit den relativ kurzfristig schwankenden Serum-Gallensäurekonzentrationen verbundenen Probleme wurden oben kurz angerissen; vermeiden lassen sich hierdurch hervorgerufene Irrtümer weitestgehend, indem über viele EHC-Zyklen hinweg der Gallensäurestoffwechsel störungsfrei von solchen kurzfristigen intra-individuellen Veränderungen untersucht werden kann. Dies ist möglich mittels Verwendung der kinetischen Methode, wie dies auch hier der Fall ist. Im nächsten Abschnitt soll diese Methode näher erläutert werden. Sie wurde bisher zumeist für Gallensäureuntersuchungen in Galle angewendet; in letzter Zeit gewinnt die Untersuchung in Serum, welches problemlos zu gewinnen ist, an Bedeutung; die hierfür notwendigen Vergleiche zwischen Serum und Galle zur Validierung einer Untersuchung in Serum gegenüber einer herkömmlichen in Galle sollen darauffolgend besprochen werden; in diese Problematik reiht sich auch die vorliegende Arbeit ein, bei der dieser Serum-Galle-Vergleich auch auf Patienten mit verschiedenen Veränderungen im Leber-Gallenwegs-Bereich erweitert werden soll.

4 UNTERSUCHUNG DER KINETIK PRIMÄRER GALLENSÄUREN

4.1 Begriffsbestimmungen

Mit "Kinetik" primärer Gallensäuren wird deren Umsatzrate in der EHC bezeichnet (78). Der Ausdruck Kinetik erscheint in diesem Zusammenhang als besonders treffend in seiner ursprünglichen griechischen Wortbedeutung angewandt, da sich die untersuchten Stoffwechselvorgänge stets im Fluß befinden; Untersuchungen der Gallensäurekinetik beinhalten daher immer eine Verlaufsbeobachtung, nicht eine Momentaufnahme der Stoffwechselsituation.

Als "Pool" einer Gallensäure wird deren gesamte in Flüssigkeiten, Geweben und Organen des Körpers vorkommende Menge bezeichnet (12). Einschränkender definieren POMARE und LOW-BEER (147): "The mass of bile salt in the enterohepatic circulation is termed the bile salt pool". Pragmatischer wird der Pool als "... that mass of bile acid, that dilutes an injected dose of tracer" bezeichnet (78). Hier schließt die Definition von BEHER (12) an, der die Pool-Größe als "the total quantity of bile salts present in their recirculating pool..." bezeichnet. Diese stoffwechselaktive Menge der primären Gallensäuren im Körper (in der sich oral verabreichte markierte primäre Gallensäuren verteilen) sei hier als deren Pool bzw. Pool-Größe bezeichnet. Die "tägliche Syntheserate" (kurz: Synthese, Syntheserate) entspricht derjenigen Menge einer primären Gallensäure, die in 24h aus Cholesterol neu gebildet wird (27). Die "fraktionelle Umsatzrate" (fractional turnover rate (FTR), turnover rate, turnover, Umsatzrate) repräsentiert den Anteil des Pools, der pro Zeiteinheit (hier: pro Tag) von neusynthetisierten Gallensäuren ersetzt wird, also dem "Umsatz" an betreffender Gallensäure entspricht (27,78,206).

4.2 Prinzip

Untersuchungen der Kinetik primärer Gallensäuren wurden von LINDSTEDT (112,113) eingeführt, um unter möglichst physiologischen Verhältnissen deren Stoffwechsel zu studieren. Er verwendet hierfür radioaktive Isotopen und die Isotopen-Verdünnungsmethode, welche auf folgendem Prinzip beruht: Eine definierte Menge einer markierten primären Gallensäure (mit bekanntem Markierungsgrad) wird einem Probanden zugeführt, mischt sich rasch und vollständig mit dem vorhandenen, "endogenen" Pool der betreffenden Gallensäure, verteilt sich und wird ebenso verstoffwechselt wie dieser. Bei darauffolgender Entnahme mehrerer, kleiner Proben aus dem zirkulierenden Pool, der nunmehr auch die zugegebene markierte Menge enthält, läßt sich bei Bestimmung des Markierungsgrades dieser einzelnen in zeitlichem Abstand gewonnenen Proben eine stetige Abnahme des Markierungsgrades feststellen, die der Umsatzrate der betreffenden Gallensäure entspricht, wenn über den Untersuchungszeitraum deren Poolgröße gleichbleibt. Diese Abnahme des Markierungsgrades von Probe zu Probe erklärt sich aus zunehmender "Verdünnung" der markierten Substanzen durch Zufuhr neusynthetisierter Gallensäure in den zirkulierenden Pool (vgl. oben). Unter unten genannten Voraussetzungen findet LINDSTEDT (113) eine Kinetik erster Ordnung mit exponentiellem Abfall des Markierungsgrades pro Zeiteinheit. Es kann folgende Gleichung formuliert werden (27, 78, 113):

$$A(t) = A(0) \cdot e^{-kt}$$

Hierbei bedeuten bei Verwendung nichtradioaktiver, stabiler Isotopen:

- $A(t)$ = atom%excess-(s.u.)-Wert der Probe zum Zeitpunkt "t"
- $A(o)$ = atom%excess-(s.u.)-Wert der Probe zum Zeitpunkt "o",
der Markierungsgabe
- e = Basis des natürlichen Logarithmus
- k = fraktionelle Umsatzrate
- t = Zeit (Tage)

Bei Verwendung des natürlichen Logarithmus erhält man:

$$\ln A(t) = \ln A(o) + (-k t)$$

Trägt man die $\ln$ atom%excess-Werte gegen die Zeit auf, so ergibt sich eine Gerade mit der Steigung -k, wie in folgender Abbildung (Abb.5) schematisch aufgetragen (vgl. auch Abb.7 und 8):

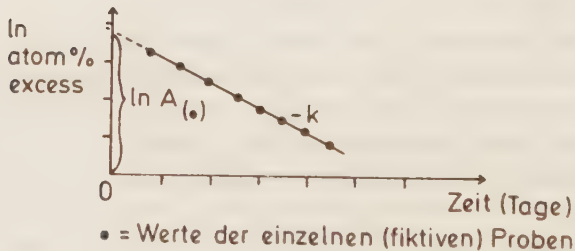


Abb. 5: Schematische Darstellung der $\ln$ atom%excess-versus-Zeit-Kurve

Die Verbindungslinie der Werte kann zum Zeitpunkt "o" hin extrapoliert werden; der dann im Schnittpunkt mit der Ordinate erhal-

tene in atom%excess-Wert repräsentiert den extrapolierten Wert in $A_{(o)}$ für den zum Zeitpunkt der Markierungsgabe ("o") vorhandenen Pool (vgl. Abb.5). Hieraus kann die Pool-Größe der untersuchten primären Gallensäure abgeleitet werden, wenn der atom%excess-Wert der verabreichten markierten Gallensäure ($A_{(m)}$) bekannt ist:

$$\text{Pool-Größe} = \frac{A_{(m)}}{A_{(o)}}$$

Die fraktionelle Umsatzrate der betreffenden Gallensäure entspricht der Neigung "-k" obiger Kurve. Durch Multiplikation der Umsatzrate mit der erhaltenen Pool-Größe kann die Syntheserate berechnet werden:

$$\begin{aligned} \text{Syntheserate} &= \text{Pool-Größe} \cdot \text{FTR} \\ &= \frac{A_{(m)}}{A_{(o)}} \cdot -k \end{aligned}$$

Voraussetzungen für derartige kinetische Betrachtungen des Stoffwechsels primärer Gallensäuren sind folgende:

- a) Der untersuchte Gallensäurepool verhält sich als ein Kompartiment
- b) Die verabreichten markierten Gallensäuren verteilen sich gleichmäßig in diesem stoffwechselaktiven Pool
- c) Die Pool-Größe der untersuchten Gallensäure bleibt während des Untersuchungszeitraumes konstant, sie befindet sich im steady-state-Zustand
- d) Die Mischung der verabreichten markierten Gallensäuren mit dem vorhandenen, endogenen Pool verläuft rasch im Vergleich zur Dauer der Untersuchung, zum Zeitpunkt der ersten Messung ist diese Mischung bereits vollständig
- e) Die verabreichte Menge markierter Gallensäuren ist klein im Vergleich zur Größe des vorhandenen Pools der betref-

4.3 Sinnhaftigkeit von Serum-Galle-Vergleichen der Gallensäurekinetik

Die Körper-Flüssigkeit, in der Gallensäuren zunächst bestimmt werden sollten, ist die Galle selbst: In die Galle werden die Gallensäuren von der Leber sezerniert, hier liegt das Speicherorgan Gallenblase im Nebenschluß als Reservoir, hier üben Gallensäuren wichtige Funktionen insbesondere als Detergentien aus (s.o.), nicht zuletzt liegen sie hier in hohen Konzentrationen vor. Direkter Zugang zu den Gallenwegen ist jedoch nur auf invasiven Wegen möglich, die für breitere klinische Studienzwecke abzulehnen sind. Seit langem werden daher Untersuchungen der Gallensäurekinetik in Proben von Duodenalsaft durchgeführt, nachdem mittels Gallenblasenkontraktion und vermehrter Freisetzung von Gallensäuren dort hohe Konzentrationen an Gallensäuren induziert werden. Zur Gewinnung von Duodenalgalle ist eine Intubation dieses Darmabschnittes notwendig, die später diskutiert werden soll. Da Duodenalsaft neben Gallensäuren ja noch eine Vielzahl anderer Substanzen enthält (z.B. Magensaft, Pankreassekret, Nahrungsbestandteile), ist eine sinnvolle Entnahme von Proben zur Gallensäurebestimmung nur nach Induktion einer Gallenblasenkontraktion und Ausschüttung der Galle ins Duodenum sowie vorwiegend auch nur im Nüchtern-Zustand möglich, um Verunreinigungen zu minimieren. Für eine Entnahme von Duodenalsaft-Proben (vereinfachend auch: "Duodenalgalle"-Proben) spricht der Umstand, daß Gallensäuren hier an einem Ort entnommen werden, den sie physiologischerweise während ihrer EHC-Zyklen passieren. Gegen eine Probenentnahme hier spricht neben der notwendigen Darmintubation vor allem auch die hierbei notwendige, potentiell beträchtliche Beeinflussung des Stoffwechsels der untersuchten Gallensäuren über die notwendige Induktion von Gallenblasenkontraktionen,

eine mögliche Veränderung der Darmmotilität und weitere, später diskutierte Nachteile (s.u.).

Aufgrund des beschriebenen spill over in die systemische Zirkulation erscheint eine Untersuchung der Gallensäurekinetik auch im Serum möglich, wenn sich hier eine Kinetik zeigt, die einer simultan aus Galleproben bestimmten gleicht, wenn also diese beiden Körperflüssigkeiten sich wie ein Kompartiment verhalten hinsichtlich der Verteilung der Gallensäuren. Aufgrund der erheblichen Konzentrationsunterschiede für Gallensäuren in diesen beiden Flüssigkeiten stößt man hier an Bereiche, die erhebliche methodische Anstrengungen erfordern. Sollte sich hier jedoch eine Vergleichbarkeit zeigen, so wären die eingangs erwähnten Zielsetzungen erfüllt, eine nicht belastende Möglichkeit zur Untersuchung des Gallensäurestoffwechsels geschaffen, die zudem noch eine nochmals geringere mögliche Beeinflussung physiologischer Abläufe mit sich brächte. Die Gewinnung von Serum ist ohne wesentliche Belastung für Probanden auch mehrmals möglich, wenn hierbei übliche kleine Entnahmemengen ausreichen.

Zur Validierung solcher Untersuchungen der Gallensäurekinetiken in Serum für primäre Gallensäuren beim Menschen wurden bisher Studien mittels radioaktiv markierter Substanzen und auch mittels stabil markierter Gallensäuren bei Gesunden bzw. für eine der beiden primären Gallensäuren durchgeführt (vgl. hierzu Tab.10, s.u.). Ziel dieser Arbeit ist es, eine Validierung für die Untersuchung der Kinetik beider primärer Gallensäuren zugleich im Serum von sowohl Gesunden als auch verschiedenen Patienten durchzuführen unter Verwendung nichtradioaktiv stabil markierter Gallensäuren. Die Durchführung der Studie soll im folgenden besprochen werden.

5 BESCHREIBUNG DER STUDIE

Den Probanden wurden oral ^{13}C -markierte CA und CDCA verabreicht. Konsekutiv in 12-stündigen Abständen wurden simultan Serum- und Duodenalgalleproben gewonnen. Nach Aufbereitung der Proben, Reinigung und Auftrennung der Gallensäuren mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie sowie rechnergestützter Isotopenverhältnismessung konnten Umsatzrate, Poolgröße und Syntheserate der beiden primären Gallensäuren bei den jeweiligen Probanden im Serum mit den aus Galle erhaltenen Werten verglichen werden.

5.1 Probanden

Untersucht wurde die Kinetik primärer Gallensäuren bei fünf gesunden Normalpersonen und bei fünf Patienten mit Veränderungen der Leberfunktion oder der Gallenwege. Alle Probanden nahmen freiwillig an der Studie teil. Vor Untersuchungsbeginn wurden sie in einem ausführlichen Gespräch über Art, Zielsetzung, Durchführung und erkennbare Risiken der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches oder mündliches Einverständnis. Eine eigene aktuelle Anamnese wurde erhoben, eine orientierende körperliche Untersuchung durchgeführt. Hinsichtlich Vorerkrankungen wurden speziell solche der Leber, Gallenwege oder des Darmes eruiert, Gewohnheiten des Äthanol-, Nikotin- und Medikamentenkonsums sowie berufliche Merkmale erfragt. Bei den Patienten wurden diese Angaben mit denen der Krankenakten verglichen. Eine Schwangerschaft wurde bei Frauen anamnestisch ausgeschlossen. Lediglich Probanden, deren körperlicher Zustand im Zeitraum mehrerer Wochen vor und auch während der Studie stabil erschien, wurden einbezogen. Die Gesunden wurden ambulant un-

tersucht, die Patienten während stationärer Aufenthalte; diätetische Vorschriften wurden hinsichtlich eines reichhaltigen Frühstücks und der Einhaltung dreier Mahlzeiten tgl. zu üblichen Zeiten gegeben. Mindestens folgende Laborparameter wurden während der Studie aktuell bestimmt: Bilirubin, alkalische Phosphatase (AP), γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT), Glutamat-Oxalacetat-Transferase (OT), Glutamat-Pyruvat-Transferase (PT), Cholinesterase (ChE). Außer bei einer Patientin (MH) und einem Gesunden (SF) wurde bei allen Probanden eine sonographische Untersuchung von Leber, Gallenwegen und -blase, Pankreas durchgeführt. Bei vier Untersuchten (HH, EG, KK, BK) wurde das zeitliche Intervall zwischen CCK (Cholecystokinin)-Injektion und sonographisch sichtbarer Gallenblasenkontraktion (auf mehr als die Hälfte des Ausgangsdurchmessers) bestimmt und somit auch die Funktionstüchtigkeit der Gallenblase gesichert. Dieser ermittelte Zeitpunkt stimmte gut mit dem Zeitpunkt des Erscheinens von B-Galle im Duodenum überein ($\pm 1-2$ min). Bei den nicht auf diese Weise sonographisch nach CCK-Injektion kontrollierten Probanden wurde mittels Aspiration von Duodenalinhalte nach CCK-Gabe der Zeitpunkt des Erscheinens von B-Galle ermittelt. Orale Medikamente, welche einzelne Probanden längerfristig erhielten, wurden beibehalten. Im Weiteren sind die einzelnen Probanden hier mittels Großbuchstaben charakterisiert (Tab.2, Tab.3).

5.1.1 Gesunde Versuchspersonen

Freiwillige gesunde Probanden wurden unter Klinikmitarbeitern gesucht:

RE ist eine 31-jährige gesunde Krankenschwester ohne anamnestische Auffälligkeiten. Medikamenten- oder Drogeneinnahme wird

negiert, gelegentlicher Alkohol- sowie Nikotinkonsum berichtet. GOT, GPT, ChE, γ -GT und AP lagen im Normbereich; Bilirubin fand sich mit 1.3mg% gering erhöht. Sonographisch zeigten Leber, Gallenwege und -blase, Milz und Pankreas keine Auffälligkeiten.

KK ist eine gesunde 29-jährige Krankenschwester, die neun Jahre vor Studiendurchführung eine Hepatitis-B-Infektion erlitten hatte, die seinerzeit ohne ausgeprägte klinische Erscheinungen abgelaufen war, im Verlauf bei Kontrollen fanden sich keine Hinweise für Chronizität, stets regelrechte Leberfunktionsproben. Weiterhin steht diese Probandin unter einer langfristigen Strumaprophylaxe mit 50 μ g L-Thyroxin/die. Subjektiv fühlt sich diese Versuchsperson wohl und leistungsfähig, ist aktive Sportlerin, trinkt gelegentlich Alkohol, raucht etwa 20 Zigaretten tgl. Klinisch fanden sich keine Zeichen einer Schilddrüsendysfunktion. Die sonographische Untersuchung der Oberbauchorgane erbrachte regelrechte Befunde, ebenso die Laborparameter.

SS ist eine 27-jährige gesunde Krankenschwester ohne anamnestische Auffälligkeiten, die mäßig Nikotin konsumiert, gelegentlich Alkohol trinkt, keine Medikamente oder Drogen zu sich nimmt. Bei der körperlichen Untersuchung zeigte sich allenfalls ein grenzwertig niedriges Gewicht. Die Laborparameter lagen im Normbereich. Diese Probandin konnte die Duodenalsonde nicht über den gesamten Untersuchungszeitraum tolerieren, so daß bei ihr lediglich die Kinetik im Serum, nicht jedoch in Galle untersucht werden konnte.

SF ist ein gesunder 34-jähriger Chemiker ohne anamnestische Auffälligkeiten, der gelegentlich Alkohol trinkt, nicht raucht und keine Medikamente zu sich nimmt. Bei ihm wurde, im Sinne eines Vorversuches, ebenfalls nur die Kinetik im Serum, nicht jedoch in Galle untersucht.

Tab. 2: Übersicht wichtiger Daten der gesunden Probanden

Proband	Alter ¹	Geschlecht	Gewicht ²	Anamnest.Angaben	Medikation	Bilirubin ³
RE	31	w	62	gesund	keine	1.3
KK	29	w	58	Z.n.Hepatitis	Thyroxin	1.0
EG	26	w	55	gesund	keine	1.0
SS	27	w	48	gesund	keine	1.0
SF	34	m	60	gesund	keine	-

¹Jahre ²Kilogramm ³mg% (normal < 1.0)

5.1.2 Patienten

Die einbezogenen Patienten befanden sich in längerfristiger stationärer Betreuung. Zusätzlich zu oben erwähnten Laboruntersuchungen wurden bei den Patienten auch die Gesamt-Serumgallensäuren (GS) mittels enzymatisch-photometrischem Assay (Merckotest^R) aus einer postprandialen Serumprobe bestimmt. Die wichtigsten Daten der Patienten sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

HH ist ein 45-jähriger Lagerist mit Zieve-Syndrom und abheilendem Ulcus duodeni. Anamnestisch bestand langjähriger Alkoholkonsum, Nikotinabusus, eine frühere Virushepatitis A. Die körperliche Untersuchung erbrachte Hepatomegalie, konsistenzvermehrte Leber, Anämie, leichten Sklerenikterus. Laborchemisch fanden sich Bilirubin mit 1.2mg%, γ -GT mit 70u/l sowie GS mit 28.9 μ mol/l mäßig erhöht, ChE auf 2200u/l vermindert, OT, PT, AP im Normbereich; auffällig weiters Lactatdehydrogenase mit 830u/l, Hämoglobin mit 9.5g%, Eosinophilie und mäßig beschleunigte Blutsenkung. Sonographisch zeigte sich Hepatomegalie, Fettleber, etwas Ascites. Bioptisch fand sich eine Fettleber

Tab. 3: Übersicht wichtiger Daten der untersuchten Patienten

Proband	Alter (Jahre)	Geschlecht	Gewicht (kg)	Diagnosen	Medikamente	Bilirubin (mg%)	OT (u/l)	γ -GT (u/l)	GS (μ mol/l)
HH	43	m	61	Zieve-Syndrom Fettleber, Leber- fibrose Ulcus duodeni	Spironolacton Cimetidin Pirenzepin Antacidum Lactulose	1.2	n ¹	70	28.9
BK	38	w	51	Leberzirrhose Cholelithiasis sek. Amenorrhoe	Spironolacton Vitamin K Folsäure Metronidazol- ovula	5.2	n	37	82.9
HR	62	m	78	Leberzirrhose Hepatom Ulcus duodeni Cholecystektomie	Spironolacton Vitamin K Lactulose Kalium p.o.	7.1	59	109	130.8
MH	75	w	76	Cholecystektomie Papillotomie Hypertonie Herzinsuffizienz Z.n. Hepatitis	Digoxin Dihydralazin	n	n	n	10.8
KW	67	m	60	Papillotomie Herzinsuffizienz	Digoxin	2.0	n	n	3.9

¹ n = normal

² GS = Gesamt-Serumgallensäuren (Merckotest^R, normal $\leq 9 \mu$ mol/l)

mit herdförmiger Fibrose und Entzündung, vereinbar mit Zieve-Syndrom bei äthanoltoxischer Leberzellschädigung. Endoskopisch konnte ein Duodenalulkus in Abheilung gesehen werden. Medikamentös erhielt der Patient Spironolacton, Cimetidin, Pirenzepin, Lactulose, Magnesiumhydroxyd, Aluminiumoxyd.

BK ist eine 38-jährige Hausfrau, bei der histologisch gesichert eine alkoholische Leberzirrhose vorliegt sowie Cholelithiasis bekannt ist. Klinisch zeigte sie Ascites, Sklerenikterus sowie eine derbe Leberkonsistenz. Bilirubin war auf 5.2mg% erhöht, γ -GT auf 37u/l, GS auf 82.9 μ mol/l, Ammoniak auf 120 μ g%, Quick reduziert auf 28%; die intestinale Flagellatenfauna fand sich vermehrt, ebenso lag eine vermehrte vaginale Keimbeseidlung vor. Sonographisch zeigte sich Hepato-Splenomegalie, eine retrograde Darstellung erbrachte röntgenologisch multiple Gallenblasensteine. Medikamentös erhielt die Patientin Spironolacton, Vitamin K, Folsäure, Metronidazol-Vaginalovula.

HR war ein 62-jähriger Patient mit histologisch gesicherter Leberzirrhose, hepatozellulärem Karzinom des linken Leberlappens mit Ausdehnung bis zur Duodenalwand sowie früher durchgeführter Cholecystektomie. Klinisch imponierten schlechter Allgemeinzustand, Ikterus, Ascites, derb-höckrige Leber. Laborchemisch fanden sich Bilirubin mit 7.1mg%, AP mit 260u/l, γ -GT mit 109u/l, OT mit 59u/l, GS mit 130.8 μ mol/l deutlich erhöht, ChE auf 1900 vermindert. Medikamentös hatte der Patient Spironolacton, Lactulose, Vitamin K, Kalium erhalten. Er verstarb wenige Monate später, pathologisch-anatomisch bestätigten sich die o.g. Diagnosen.

MH ist eine 75-jährige Patientin mit stattgehabter Papillotomie wegen Choledochuskonkrement sowie früherer Cholecystektomie. Weiterhin bestand eine kompensierte Herzinsuffizienz sowie ein

Hypertonus essentieller Genese. Klinisch war die Patientin beschwerdefrei. GS fanden sich mit $10.8 \mu\text{mol/l}$ grenzwertig erhöht, serologisch bestanden Hinweise für abgelaufene Hepatitis-A und -B-Infektionen. Medikamentös nahm die Patientin Digoxin sowie Dihydralazin ein. Bei einer endoskopischen Kontrolldarstellung fand sich ein regelrechtes Gallengangssystem bei Zustand nach Papillotomie und Cholecystektomie.

KW ist ein 67-jähriger Patient mit stattgehabter Papillotomie wegen Choledochuskonkrement sowie einer leichtgradigen Herzinsuffizienz. Klinisch war der Patient beschwerdefrei. Bilirubin fand sich mit $2.0 \text{mg\%}$ gering erhöht. Medikamentös nahm der Patient Digoxin ein. Sonographisch zeigten sich bis auf Nierencysten unauffällige Oberbauchorgane. Bei der Kontrolldarstellung der Gallenwege fanden sich Gallenblase und Choledochus steinfrei und regelrecht bei Zustand nach Papillotomie.

5.2 Probengewinnung

Die Gewinnung von Serum- und Duodenalgalle-Proben nach Verabreichung markierter Gallensäuren geschah nach einem standardisierten Protokoll, von dessen Ablauf nur bei den drei ersten Probanden (SF, MH, KW) geringfügig abgewichen wurde: Im Verlauf des Tages "0" wurde eine handelsübliche dünne Verweil-Nährsonde (Modell Freka^R, Fresenius AG, Bad Homburg; steril verpackt, Länge 1200cm, Außendurchmesser 2.8mm, Innendurchmesser 2.1mm, ein Lumen, sechs ca. $2 \times 1 \text{mm}$ große Öffnungen verteilt in den distalen 2.5-8.0cm der Sonde, röntgendichter reponibler Führungsdraht, verschließbares proximales Ende mit Spritzen-Ansatz) nach Imprägnierung (Silikonspray, zur Verbesserung der Gleiteigenschaften) unter schluckweisem Trinken von Wasser über Nase, Pharynx, Ösophagus bis in den Magen des Probanden vorge-

schoben. Unter röntgenologischer Durchleuchtung wurde die SONDENSPIITZE dann via Pylorus bis ins distale Drittel des DuodenumS knapp vor das Treitz'sche Ligament lokalisiert; in dieser Lage wurde die Sonde am nasalen Ende fixiert und für die Studiendauer belassen; die Aspirationsöffnungen kamen so etwa im mittleren bis distalen Duodenaldrittel zu liegen, also in unmittelbarer Nähe der Papilla Vateri, damit hier Galle aspiriert werden konnte. Bei den Probanden MH und KW wurde die Sonde anläßlich endoskopischer Untersuchungen unter Sicht plazierte.

Duodenalgalle-Proben wurden durch Aspiration von Duodenalinhalt über die Sondenöffnungen mittels handelsüblicher steril verpackter Einmalspritzen gewonnen; gelegentlich war vor einer möglichen Aspiration ein vorheriges Freispülen der Öffnungen nötig, welches mit zimmerwarmer steriler 0.9% NaCl-Lösung geschah. Entnommen wurden, abhängig von der galligen Verfärbung des Duodenalinhaltes, 0.5-3.0ml, die in sterile Probengefäße umgefüllt wurden und bis zur weiteren Verarbeitung im Eisfach bei ca. -20°C aufbewahrt wurden. Anschließend wurde der Rest des Aspirates unter Nachspülen mit 5-10ml 0.9% NaCl ins Duodenum re-injiziert.

Morgendliche Galleabnahmen erfolgten im Nüchtern-Zustand des Probanden nach Stimulation der Gallenblasenkontraktion mit CCK (AB Kabi Diagnostica, Nyköping, Schweden) (vgl. oben). 1 Einheit CCK (Ivy dog unit) je kg Körpergewicht des Probanden wurde hierzu innerhalb 1-2min in eine Unterarmvene injiziert. Wenige Minuten später (s.o.) wurde dann gallereicher Duodenalinhalt aspiriert (B-Galle). Abendliche Abnahmen erfolgten ohne Gallenblasenstimulation. Die Probandin SS, die (s.o.) die Duodenalsonde nicht über den ganzen Studienzeitraum tolerierte, erhielt dennoch stets diese CCK-Injektion, um über den Studienzeitraum hinweg vergleichbare Untersuchungsverhältnisse zu ge-

währleisten; die Patientin BK mit Cholecystolithiasis erhielt lediglich 0.8 units/kg, um nicht eine etwaige Konkrementaustreibung hervorzurufen mit der Möglichkeit konsekutiver Koliken; HR erhielt 0.5 units/kg injiziert, um bei Z.n. Cholecystektomie eine den übrigen Probanden vergleichbare Situation zu gewährleisten; zudem war hiermit eine deutliche intensivierte Galle-Verfärbung des Aspirates zu erreichen. Bei MH wurden die Proben ohne CCK-Gaben gewonnen.

Jeweils simultan zu den Galleabnahmen, d.h. innerhalb von 1-2 Minuten, wurden 15-20ml venöses Blut aus einer Unterarmvene entnommen, in Laborprobengefäße umgefüllt und, sofern nicht unmittelbar weiterverarbeitet, für bis zu 48h im Kühlschrank bei 10°C aufbewahrt. Bei einigen Probanden (vgl. Tabelle 4) wurden zusätzlich jeweils 90min ($\pm$ 15min) nach erfolgter CCK-Verabreichung und zwischenzeitlichem Frühstück postprandiale ("pp") Blutproben abgenommen, um neben den aus den Nüchtern-Proben erhaltenen Werten auch diese postprandialen Werte mit den aus Galle nach CCK-Stimulation gewonnenen vergleichen zu können (siehe auch unten). Spätestens nach Ablauf der genannten Frist wurden die Blutproben zentrifugiert und das erhaltene Serum, falls nicht gleich weiterverarbeitet (s.u.), eingefroren. Das o.g. Frühstück der Probanden bestand aus Kaffee, zwei Semmeln, Butter und Brotaufstrich.

Wenn eine Toleranz der eingeführten Duodenalsonde über mehrere Stunden gewährleistet erschien und eine weitere Toleranz zu erwarten war, wurden abends ca. um 20.00 Uhr des Tages "0" sowohl Blut als auch Duodenalgalle abgenommen als 0-Werte, in denen das natürliche ^{13}C -Vorkommen in Gallensäuren individuell bestimmt wurde (s.u.). Nach der 0-Wert-Abnahme erhielten die Probanden ^{13}C -markierte primäre Gallensäuren in 200ml Bicarbonatlösung (0.25%) gelöst zu trinken, wobei dies im Beisein des

Untersuchers (zur Kontrolle der tatsächlichen Einnahme) und rasch, d.h. innerhalb weniger Minuten erfolgte. Unter mehrstündigem Rühren wurden die markierten Gallensäuren zuvor in der Bicarbonatlösung, die zur Abpufferung von Magensäure und hierdurch rascher und unveränderter Gallensäurenpassage durch den Magen ins Duodenum diente, bis zur optischen Klarheit der Lösung gelöst. Als Dosis der verabreichten markierten Gallensäuren wurden je 50mg CA und 50mg CDCA gewählt, außer bei den Probanden MH und KW, die jeweils 20mg erhielten. Diese Reduktion erfolgte aufgrund der stattgehabten Papillotomie dieser beiden Probanden und dem hierbei mutmaßlich reduzierten Gallensäurepool (s.u.), um auch bei diesen Probanden nicht die Größe des vorhandenen endogenen Pools gravierend zu verändern. Die ansonsten gewählte Dosis von je 50mg der beiden primären Gallensäuren lag in ihrer Größenordnung bei der auch von anderen Untersuchern (vgl. Tab.10) gewählten bei Verwendung stabiler Isotopen zur Markierung. Eine abendliche Gabe der Markierung war ebenfalls üblich und sinnvoll, um eine Durchmischung mit dem vorhandenen Pool zu gewährleisten (78). Abweichend hiervon hatten die Probanden MH, KW und SF die Markierung bereits in den Vormittagsstunden erhalten.

12 Stunden nach Verabreichung der Markierung, d.h. am folgenden Morgen (bzw. am Abend des ersten Tages bei MH, KW, SF) wurden im Nüchternzustand Galle- und Serumprobe "1" abgenommen auf die beschriebene Weise, 1.5h später noch die Serumprobe "1pp" (postprandial); konsekutiv in 12-stündigen Abständen folgten weitere Probenentnahmen über einen Zeitraum von dreieinhalb Tagen (± 0.5 Tage) hinweg (s. Tab.4). Diese Zeitdauer steht in Übereinstimmung mit Angaben von HOFMANN und HOFFMAN (78), die mindestens fünf in einem Zeitraum von drei bis fünf oder auch acht Tagen konsekutiv entnommene Proben zur Beschreibung einer Gallensäurekinetik für erforderlich erachten. Uns

erschien die täglich zweimalige Probengewinnung auch im Hinblick auf die Compliance der Probanden, die Praktikabilität im Krankenhausablauf und auch die vertretbare abzunehmende Blutmenge sinnvoll. Ein Abstand von 12h der ersten Probenabnahme von der Markierungsgabe erscheint nach Literaturangaben (78) ebenfalls ausreichend zur Durchmischung mit dem endogenen Pool, so daß auch diese o.g. Voraussetzung erfüllt ist. Erwähnt werden soll noch, daß die abendlichen Proben im engeren Sinne postprandiale Proben darstellen, da sie nach Mahlzeiten gewonnen sind. In der nachfolgenden Tabelle 4 werden die Studiendauer und die Anzahl der Serum- und der Galleproben zusammengefaßt:

Tab. 4: Übersicht über Studiendauer, Art und Anzahl der Proben

Proband	Dauer ¹	Zahl der Galleproben		Zahl der Serumproben		
		nüchtern	postprandial	nüchtern (morgens)	postprandial (morgens)	postprandial (abends)
RE	3.5	4	3	4	Ø	3
KK	3.5	4	3	4	4	3
EG	3.5	4	3	4	4	3
SS	3.5	Ø	Ø	4	4	3
SF	4.0	Ø	Ø	4	Ø	4
HH	3.5	4	3	4	Ø	3
BK	3.5	4	3	4	4	3
HR	3.5	4	3	4	4	3
MH	3.0	3	3	3	Ø	3
KW	3.0	3	3	3	Ø	3

¹Angaben in Tagen

Nach Durchmischung mit dem endogenen Pool sollte nun jede der gewonnenen Proben, in zeitlich abfallendem Grad, primäre Gal-

lensäuren enthalten, die über das natürliche Maß hinaus (s.u.) ^{13}C -Isotopen tragen. Um hieraus die o.g. Gerade (Abb.5) zu finden und Umsatzrate, Poolgröße und Synthese der beiden primären Gallensäuren berechnen zu können, müssen die erhaltenen Proben einer weiteren, teils aufwendigen Verarbeitung unterzogen werden:

5.3 Probenverarbeitung

Serumproben: 2ml Serum (180) wurden mit NaOH verdünnt und erwärmt (173). Durch Analgerung an Bond Elut^R-Kartuschen (C_{18} -gebundene Kieselerde; Analytichem International, USA) extrahierten wir die Gallensäuren und eluierten sie nach Auswaschen der Kartuschen mit NaOH, H_2O , Methanol. Das Eluat wurde angesäuert (pH 3-4), mit Hexan wurden Störsubstanzen extrahiert. Eine konsekutive Solvolyse (138) bewirkte eine Abtrennung der C_3 -Sulfatgruppen. Nach Neutralisierung und Evaporisation der Lösung wurden die Konjugate enzymatisch mittels Cholyglycyl-Hydrolase gespalten. Nach erneuter Ansäuerung (pH 3-4) lief die Lösung über eine Lipidex 1000-Säule (173). Mit Methanol wurden die dekonjugierten Gallensäuren eluiert und die entstandene Lösung unter Stickstoffgas eingedampft. Nach Methylierung erfolgte die Bildung der Trimethyl-silyl-äther-Derivate der Gallensäuren. Die unter Stickstoffgas erneut eingetrocknete Probe wurde mit Iso-Oktan gelöst. Bei diesem Verfahren betrug die Wiederfindungsrate für CA 80%, für CDCA sogar 92% (173).

Galleproben: 50-500µl der Duodenalgalleprobe wurden wie oben beschrieben dekonjugiert. Die entstandene Lösung wurde stark angesäuert (pH 1) und die wäßrige Phase mehrmals mit Diäthyläther extrahiert. Nun wurden ebenfalls nach Methylierung die Trimethylsilyl-äther-Derivate gebildet. Die Wiederfindungsraten

für CA und CDCA sind eher noch besser als oben beschrieben (173).

Um dem Ziel der Studie gerecht zu werden und sowohl im Serum als auch in Duodenalgalle nach der Isotopenverdünnungsmethode mit Hilfe stabil nicht-radioaktiv markierter Gallensäurenisotopen die Kinetik der primären menschlichen Gallensäuren zu untersuchen, sind äußerst empfindliche Meßmethoden zusätzlich zu Probenaufbereitung und -reinigung notwendig, die die unterschiedlichen Gallensäurekonzentrationen in den beiden erwähnten Körperflüssigkeiten berücksichtigen, die möglichen geringgradigen Unterschiede im $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis (s.u.) von Probe zu Probe und auch eine exakte Differenzierung von CA und CDCA erlauben. Eine solche Meßgenauigkeit wird mittels spezieller Probenverarbeitung, kombinierter Gaschromatographie/Massenspektrometrie mit Isotopenverhältnismessung erreicht.

5.4 Gaschromatographie (GC) / Massenspektrometrie (MS) / Isotopenverhältnismessung (IR)

Der gaschromatographische Schritt dient der Auftrennung der einzelnen Gallensäuren voneinander wie auch von möglichen verunreinigenden Substanzen wie z.B. Cholesterol, welches auch nach den beschriebenen Verarbeitungsschritten noch in der gereinigten Probe enthalten sein kann (44,62,126,196). Von KARLAGANIS und PAUMGARTNER (92,94) wird dieser Schritt verfeinert. Für die Zwecke unsrer Studie verwendeten wir die Methode von KARLAGANIS und PAUMGARTNER (93), die von STELLAARD et al (180) weiterentwickelt wurde, in gering modifizierter Form: 0.5-2.0µl der gelösten Methylester-Trimethylsilyläther-Derivate der Gallensäuren wurden auf eine CPSil19CB-Säule (Länge 25m, Innendurchmesser 0.33mm, chemisch an die Siliziumdioxid-Kapillarsäule gebunden eine Schicht OV-1701; Chrompack, Middelburg,

Niederlande) injiziert. Als Gaschromatographiegerät diente ein Carlo-Erba Fractovap 4160, welches mit einem LT430 Temperaturprogrammiergerät bestückt war. Als Trägergas wurde Helium (Druck 0.8 kg/cm^2) verwandt. Bei einer Ofentemperatur von 140°C und gekühltem Injektor erfolgte die Probeninjektion in die Säule und die Ofentemperatur wurde programmiert bis 270°C erhöht, später weiter bis 300°C , um auch spät wandernde Substanzen von der Säule zu extrahieren. Es zeigte sich eine hervorragende Auftrennung der einzelnen Gallensäuren voneinander und von Störsubstanzen (181).

In einem Massenspektrometer werden die untersuchten Moleküle in der gasförmigen Phase mit Elektronen (Energiegehalt $10\text{--}100\text{eV}$) beschossen. Besitzen diese Elektronen eine höhere kinetische Energie als diejenige Energie beträgt, die notwendig ist zur Herauslösung eines Elektrons aus einem Atom des untersuchten Moleküls, so entsteht nach dem Zusammenstoß ein Molekül, welches durch Verlust eines Elektrons ein positiv geladenes Atom enthält; dieser angeregte Zustand führt dazu, daß dieses Molekül innerhalb von Mikrosekunden in eine Anzahl Molekül-Fragmente zerfällt. Art und relatives Vorkommen dieser Fragmente hängen entscheidend von der Struktur des beschossenen Moleküls ab, so daß strukturdifferente Moleküle unterschiedliche Fragment-Muster ergeben. Diese Fragmente, die unterschiedliche Massen aufweisen, können nachgewiesen werden. Bei Kenntnis ihres Fragment-Musters können daher Moleküle auch aus einer Mischung mit sehr strukturverwandten Molekülen heraus erkannt werden. Die Differenzierung nach Massen erlaubt weiterhin die Unterscheidung von Massenunterschieden von nur einem Proton. Somit können Fragmente eines Moleküls dahingehend aufgetrennt werden, ob sie ein (um ein Proton schwereres) ^{13}C -Isotop tragen oder das betreffende C-Atom als ^{12}C -Atom vorliegt. Dies ist die Voraussetzung für die Verwendung stabil mit ^{13}C -Atomen mar-

kierter Gallensäuren, die damit (nach Zufuhr und Mischung mit den im untersuchten Organismus vorhandenen Gallensäuren) in ihrem Anteil in biologischen Proben erkannt werden können. Stabil markiert bedeutet das Vorliegen eines oder mehrerer schwerer, aber nicht radioaktiver Atome (z.B. ^{13}C oder ^2H) in Molekülen, die chemisch strukturgleich ihren natürlich vorkommenden Analoga sind, und die dieses schwere Atom in chemisch über den Untersuchungszeitraum stabiler Position enthalten. Solche stabil markierten, nicht radioaktiv strahlenden Moleküle sind für CA und CDCA mittlerweile kommerziell erhältlich (Merck, Sharp und Dohme, Kanada), wobei wir am C_{24} stabil ^{13}C -markierte verwenden. Der Markierungsgrad der verwendeten Gallensäuren wurde mittels Massenspektrometrie überprüft und betrug 90%.

Vergleichbar mit dem ebenfalls natürlich vorkommenden ^{14}C -Isotop liegt ein gewisser Anteil der C-Atome natürlicherweise (wie auch für ^{14}C -Atome bekannt) als schweres, jedoch nicht radioaktives ^{13}C -Isotop vor (sog. "natural abundance"). Für ein gegebenes Molekül ist dieser Anteil schwerer C-Atome eine feste, durch die Anzahl der im Molekül vorkommenden C-Atome bestimmte Größe. CAMPBELL (26) gibt für diese natural abundance einen Wert von 1.069 sog. "atom%" je C-Atom an (vgl. 33). Grundlegende Arbeiten zur Massenspektrometrie speziell von Gallensäuren führen BERGSTRÖM et al (19) durch, fortgeführt und verbessert von ENEROTH et al (44). SJÖVALL et al (175) beschreiben 1971 mögliche Störgrößen und deren Minimierung und geben Massenspekttra primärer Gallensäuren an. Stabil markierte Gallensäuren verwenden KLEIN et al (98,99); diese Technik zur Messung von Gallensäurekinetiken wird angewandt von DANZINGER et al (30), HOFMANN et al (77,78), WATKINS et al (210,211), BALISTRERI et al (10), weiterentwickelt von DeMARK et al (33), EVERSON et al (50,51, 53), STELLAARD et al (180,181). REIMENDAL et al (159) und AXELSON et al (8) zeigen Techniken zur computergestützten Ana-

lyse der MS-Daten. ELLIOT (43) gibt einen aktuellen Überblick über die Massenspektrometrie von Gallensäuren.

Wir verwendeten ein Finnigan 4021-Massenspektrometer mit Datenverarbeitungssystem, dessen Einlaß direkt mit der oben beschriebenen GC-Säule verbunden war. Die MS-Ionenquelle wurde mit 70eV im "electron impact mode" (Stoß-Ionisierung) betrieben. Mittels "selected ion monitoring" (SIM) wurden aus der Vielzahl entstehender Fragmente für CA und CDCA relevante so ausgewählt, daß der das C_{24} -Atom tragende Molekülteil untersucht werden konnte; in dieser Position befand sich (s.o.) das stabil ^{13}C -markierte Atom unserer verabreichten markierten CA bzw. CDCA. Hat das Fragment eines natürlichen Gallensäuremoleküls (das kein schweres C-Atom trägt) die Masse "m", so besitzt dasjenige des markierten Moleküls die Masse "m+1". Für CA wählten wir die Fragmente mit den Massen 458 bzw. 459 aus, für CDCA 370 bzw. 371 (vgl. 181). Nach exakter Zentrierung und Eichung auf diese Massen wurde um das jeweilige Massenzentrum herum eine Breite von 125mmu eingeräumt. In diesem Bereich erfolgte während einer jeweiligen Dauer von 50msec die Zählung der Fragmente mit den angegebenen Massen. Da diese Fragmente eindeutig CA oder CDCA zuzuordnen waren, ließ sich in den untersuchten Proben der Anteil markierter CA bzw. CDCA bestimmen, wenn hinsichtlich natural abundance (s.o.) korrigiert wurde:

Der Ausdruck "atom%" wird für den Grad verwendet, zu dem ein bestimmtes C-Atom eines Moleküls als ^{13}C -Isotop vorliegt. Messungen des Isotopenverhältnisses $^{13}C/^{12}C$ nach Gabe markierter Substanz und Mischung dieser mit im Körper vorhandener und konsekutiver Probennahme sind nur dann möglich, wenn die markierte Substanz wiedergefunden werden kann; dies ist nur dann möglich, wenn über den Untersuchungszeitraum hinweg in den untersuchten Fragmenten ein Überschuß an ^{13}C -Isotopen erzielt werden konnte (mit der verabreichten markierten Substanz). Der dann meßbare

Überschuß von ^{13}C -Isotopen über natural abundance hinaus wird als "atom%excess" bezeichnet (26). Er berechnet sich aus (170)

$$\text{atom \% excess} = \frac{R'}{R'+1} \cdot 100$$

wobei R' das (bezüglich natural abundance korrigierte) $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis darstellt, welches sich aus

$$R' = R - R_0$$

ergibt; R bedeutet das erhaltene Isotopenverhältnis, R_0 natural abundance. Für jede der entnommenen Proben wurde so ein atom % excess-Wert erhalten, jeweils für CA und CDCA.

Trägt man den natürlichen Logarithmus dieser Werte gegen die Zeit auf, so erhält man (Kinetik 1. Ordnung, vgl. Abb.5) beim Verbinden der einzelnen Punkte eine Gerade. Der Abfall dieser Gerade ($-k$, s.o.) entspricht der Umsatzrate. Die Poolgröße wird erhalten aus

$$\text{Poolgröße} = \frac{D_m \cdot b_m \cdot 100}{e^a} - D_m$$

wobei D_m der verabreichten (bekannten) Dosis, b_m dem (bekannten) Markierungsgrad dieser Dosis und a dem Ordinatenabschnitt beim extrapolierten o-Durchgang der erhaltenen Gerade entspricht.

Die erhaltenen atom%excess-Werte für jede Probe wurden in den natürlichen Logarithmus überführt; rechnergestützt wurden so dann mittels linearer Regressionsanalyse der $\ln$ atom%excess/Zeit-Werte die zugehörigen Geraden gefunden, jeweils für Serum bzw. Galle sowohl für CA als auch für CDCA. Aus den erhaltenen Gleichungen ($y=ax+b$) ließ sich die Umsatzrate (Abfall der Geraden) sowie der Achsenabschnitt a beim (extrapolierten) Null-Durchgang der Geraden durch die y -Achse entnehmen. Durch Einsetzen in obige Gleichung konnte die Poolgröße berechnet werden. Durch Multiplikation von FTR mit Poolgröße konnte darauf die Synthese berechnet werden (s.o.).

Entsprechend Angaben von HOFMANN und HOFFMAN (78) wurde die Poolgröße in $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Körpergewicht) ausgedrückt, Umsatzrate in Tag^{-1} , Syntheserate in $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{Tag}^{-1}$.

Hievon abweichend werden teilweise vor allem in der älteren Literatur die Poolgrößen auch in mg angegeben, die Syntheseraten in $\text{mg} \cdot \text{Tag}^{-1}$. Für CA wurde zur stöchiometrischen Umrechnung das Molekulargewicht 408 und für CDCA das von 393 verwendet.

6 ERGEBNISSE

Nachdem die einzelnen Proben verarbeitet und auf die beschriebene Weise jeweils die $\ln \text{atom\%excess}$ -Werte jeder einzelnen Probe erhalten wurden, konnten die $\ln \text{atom\%excess}$ -versus-Zeit-Kurven (vgl. Abb.5) bei jedem Probanden für CA und für CDCA sowohl für die aus Galle als auch für die aus Serum ermittelten Werte beschrieben werden mittels rechnergestützter linearer Regressionsanalyse unter Einbeziehung möglichst vieler erhaltener Werte. Hierbei wurde nicht nach nüchternen oder postprandialen Werten unterschieden, da dies, wie die durchgeführten Berechnungen zeigten, nicht zu verbesserten Korrelationen führte, zumindest bei der Mehrzahl der untersuchten Kinetiken. Tabellarisch (Tab.5,Tab.6) sollen die für unsere Kinetik-Parameter verwendeten Kurvenfunktionen für CA bzw. CDCA als Ausgangswerte zunächst angegeben werden:

Tab. 5: Für CA ermittelte $\ln \text{atom\%excess}$ -versus-Zeit-Kurven in Serum im Vergleich mit Galle

Proband	Kurvenfunktion		Korrelationskoeffizient	
	Serum y=	Galle y=	Serum r=	Galle r=
RE	2.59-0.85x	2.60-0.84x	-0.97	-0.99
KK	1.85-0.38x	1.78-0.38x	-0.89	-0.91
EG	1.29-0.28x	1.32-0.10x	-0.93	-0.96
SS	2.19-0.40x	-	-0.98	-
SF	1.40-0.49x	-	-0.99	-
HH	1.82-0.43x	1.93-0.44x	-0.96	-0.99
BK	2.49-0.24x	2.30-0.19x	-0.93	-0.88
HR	2.18-0.11x	2.11-0.10x	-0.99	-0.96
MH	1.28-0.54x	1.39-0.54x	-0.99	-0.98
KW	0.72-0.25x	0.81-0.27x	-0.96	-0.93

Tab. 6: Für CDCA ermittelte $\ln$ atom%excess-versus-Zeit-Kurven in Serum im Vergleich mit Galle

Proband	Kurvenfunktion		Korrelationskoeffizient	
	Serum y=	Galle y=	Serum r=	Galle r=
RE	$2.47-0.35x$	$2.46-0.38x$	-0.98	-0.99
KK	$1.65-0.17x$	$1.69-0.21x$	-0.97	-0.97
EG	$1.62-0.08x$	$1.77-0.08x$	-0.82	-0.94
SS	$1.73-0.20x$	-	-0.96	-
SF	$1.69-0.38x$	-	-0.99	-
HH	$1.51-0.26x$	$1.57-0.25x$	-0.98	-0.98
BK	$0.99-0.18x$	$0.99-0.21x$	-0.91	-0.88
HR	$1.92-0.15x$	$1.85-0.13x$	-0.97	-0.92
MH	$1.71-0.44x$	$1.54-0.38x$	-0.99	-0.98
KW	$0.91-0.18x$	$1.02-0.17x$	-0.88	-0.97

Zur Veranschaulichung soll nachstehend die für den Probanden HR ermittelte $\ln$ atom%excess-versus-Zeit-Kurve für CA in Serum sowie in Galle (Abb.7) und auch für CDCA (Abb.8) dargestellt werden (vgl. Abb.5). Durchwegs fanden sich (Tab.5 und 6) befriedigende Korrelationskoeffizienten für die aufgeführten $\ln$ atom%excess-versus-Zeit-Kurven mit vielleicht einer Ausnahme (EG, CDCA in Serum), wobei mitunter sog. "Ausreißer"-Werte wegzulassen waren. Zumeist genügten 6-7 Werte zur ausreichend genauen Beschreibung der Geraden. Bei allen untersuchten Kinetiken konnte eine Gerade (bei semi-logarithm. Auftragung) entlang der ermittelten Werte angenähert werden, so daß die Voraussetzung nur eines Kompartments erfüllt ist, in dem sich die untersuchten Gallensäurepools befinden.

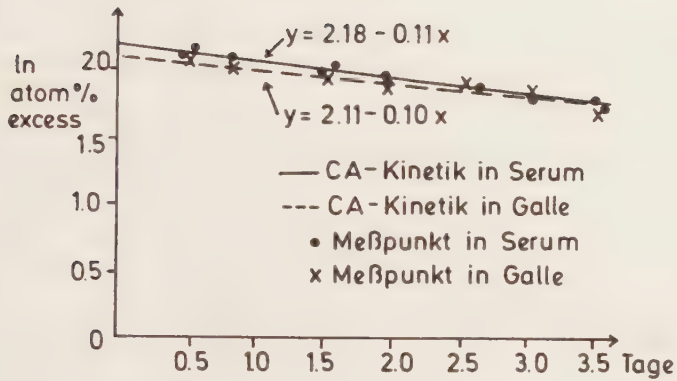


Abb. 7: Cholsäure (CA)-Kinetik in Serum bzw. in Galle bei Patient HR

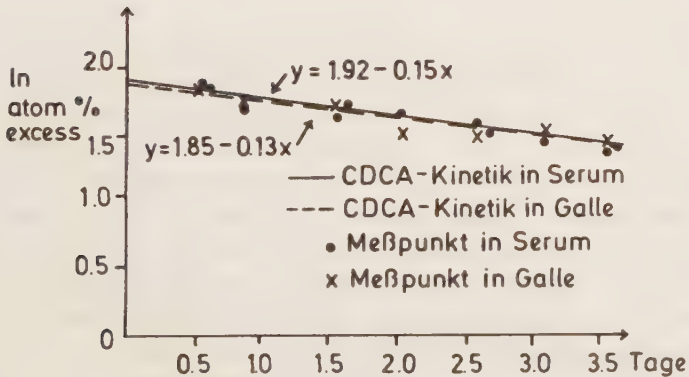


Abb. 8: Chenodeoxycholsäure (CDCA)-Kinetik in Serum bzw. in Galle bei Patient HR

Die fraktionellen Umsatzraten von CA bzw. CDCA in Serum ermittelt verglichen mit den in Galle ermittelten Werten konnten (s.o.) direkt aus den aufgeführten Kurvenfunktionen entnommen werden, da sie ja deren Steigung entsprechen.

Tab. 7: Fraktionelle Umsatzraten der primären Gallensäuren, in Serum ermittelte Werte verglichen mit den in Galle ermittelten

Proband	Umsatzrate von CA ¹		Umsatzrate von CDCA ¹	
	Serum	Galle	Serum	Galle
RE	0.85	0.84	0.35	0.38
KK	0.38	0.38	0.17	0.21
EG	0.28	0.10	0.08	0.08
SS	0.40	-	0.20	-
SF	0.49	-	0.38	-
HH	0.43	0.44	0.26	0.25
BK	0.24	0.19	0.18	0.21
HR	0.11	0.10	0.15	0.13
MH	0.54	0.54	0.44	0.38
KW	0.25	0.27	0.18	0.17

¹ Angaben pro Tag

Für die Umsatzraten fanden sich mit einer Ausnahme (EG, Cholsäure) hervorragende Übereinstimmungen der in Serum ermittelten Ergebnisse mit den in Galle erhaltenen (Tab.7; Abb.9). Bei Berücksichtigung dieser Ausnahme lagen die Abweichungen der Serum- von den Galle-Werten bei maximal 0.06/Tag, so daß geschlossen werden kann, daß mittels Untersuchung der Kinetik beider primärer Gallensäuren in Serum eine der herkömmlichen Methode sicher gleichwertige Bestimmung der Umsatzraten von CA und CDCA zugleich möglich ist. Bei den festgestellten Umsatzraten fiel eine große interindividuelle Streubreite auf, die bei den gesunden Probanden eher noch betonter war als bei den Patienten. Mit Ausnahme eines Probanden (HR) war weiterhin durchwegs eine für CA zumeist deutlich höhere fraktionelle Um-

satzrate zu beobachten als wir sie für CDCA bestimmten (vgl. Abb.9).

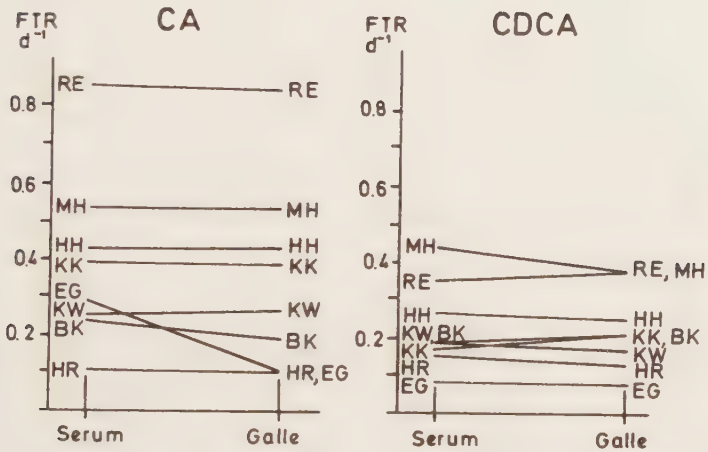


Abb. 9: Vergleich der in Serum mit den in Galle gefundenen fraktionellen Umsatzraten für Cholsäure (CA) und Chenodeoxycholsäure (CDCA)

Die jeweilige Größe des Pools der beiden primären Gallensäuren, die ebenfalls für acht der zehn untersuchten Probanden in Serum wie auch in Galle ermittelt wurde (für SS und SF lediglich in Serum), und einen Vergleich der herkömmlichen Galle-Methode mit den in Serum ermittelten Werten ermöglichte, soll nachstehend ebenfalls tabellarisch (Tab.8) dargestellt und graphisch (Abb.10) verdeutlicht werden:

Tab. 8: Poolgrößen der primären Gallensäuren in Serum bzw. Galle

Proband	Pool-Größe von CA ¹		Pool-Größe von CDCA ¹	
	Serum	Galle	Serum	Galle
RE	13.3	13.2	15.6	15.8
KK	26.5	29.9	35.7	34.2
EG	52.9	51.3	38.9	33.2
SS	23.1	-	39.7	-
SF	43.2	-	33.1	-
HH	27.2	24.6	39.4	37.8
BK	17.5	19.2	81.1	81.1
HR	14.4	15.5	19.9	21.5
MH	18.0	16.1	12.0	14.3
KW	34.9	31.8	29.9	26.7

¹Angaben in $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$

Auch für die Pool-Größen der primären Gallensäuren zeigte sich somit eine sehr gute Übereinstimmung der in Serum gefundenen mit den in Galle bestimmten Werte. Maximal betrug die Differenz beider Bestimmungsarten 12.9% (EG,CDCA). Auch bei den Pool-Größen fiel sowohl für CA als auch für CDCA die weite Bandbreite im interindividuellen Vergleich auf. Bei den Patienten mit Lebererkrankungen fand sich durchwegs eine deutlich höhere CDCA-Poolgröße als für CA, bei den gesunden Probanden bestand auch hierfür eine große interindividuelle Streuung (vgl. Abb.10).

Wie im vorausgehenden Kapitel beschrieben, ließ sich durch Multiplikation der frakt. Umsatzrate mit der Poolgröße die tägliche Syntheserate jeder der beiden primären Gallensäuren ermitteln, wobei ebenfalls die in Serum erhaltenen Ergebnisse mit den in Galle festgestellten verglichen wurden, wie es dem Ziel dieser Arbeit entspricht; anzumerken hierbei ist der Umstand, daß eventuelle Abweichungen der Serumergebnisse von den Galleergebnissen ja von jedem der beiden Parameter, FTR oder Poolgröße, aus denen die Syntheserate ermittelt wird, abhängig sind. Ein tabellarischer Vergleich der berechneten Synthesera-

ten entsprechend den beiden vorausgehenden Tabellen erschien daher am sinnvollsten (Tab.9).

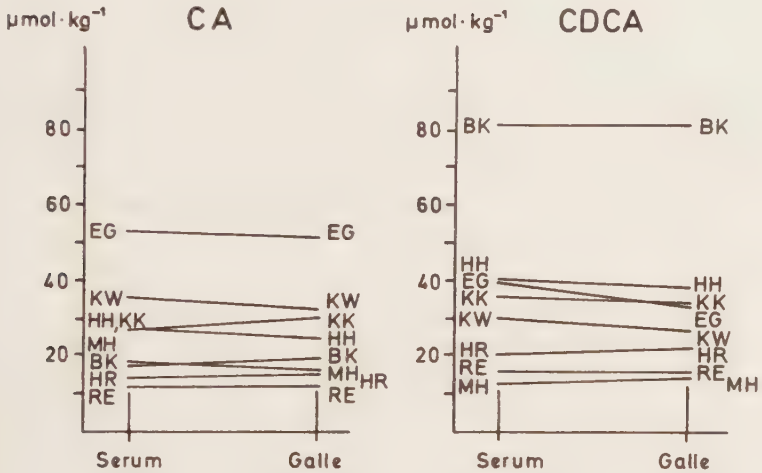


Abb. 10: Vergleich der in Serum mit den in Galle gefundenen Pool-Größen für Cholsäure (CA) und Chenodeoxycholsäure (CDCA)

Tab. 9: Tägliche Syntheseraten der primären Gallensäuren, in Serum ermittelt verglichen mit den in Galle erhaltenen Werten

Proband	Syntheserate von CA ¹		Syntheserate von CDCA ¹	
	Serum	Galle	Serum	Galle
RE	11.3	11.1	5.5	6.0
KK	10.0	11.4	6.1	7.2
EG	14.8	5.1	3.1	2.6
SS	9.2	-	7.9	-
SF	21.2	-	12.6	-
HH	11.7	10.8	10.3	9.5
BK	4.2	3.6	14.6	17.0
HR	1.6	1.6	3.0	2.8
MH	9.7	8.7	5.3	5.5
KW	8.7	8.6	5.4	4.5

¹Angaben in $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{Tag}^{-1}$

Bei acht der untersuchten Probanden konnte somit die Kinetik der beiden primären Gallensäuren beschrieben werden im Vergleich der mittels herkömmlicher Technik in Galle bestimmten Werte zu den in Serum gefundenen Ergebnissen; erstmals nicht nur bei Gesunden sondern auch bei Patienten u.a. mit Leberzirrhose konnten in einem Untersuchungs- und Probenverarbeitungsgang unter Zuhilfenahme nicht-radioaktiver Markersubstanzen zugleich Umsatzrate, Poolgröße und auch Syntheserate sowohl von Cholsäure als auch von Chenodeoxycholsäure beschrieben werden.

7 DISKUSSION

7.1 Besprechung der Studiendurchführung

Die Auswahl der Probanden erfolgte nicht, um ein repräsentatives Kollektiv zu bilden, sondern um die Durchführbarkeit der beschriebenen Kinetik primärer Gallensäuren nicht nur bei Gesunden sondern auch bei Patienten mit Erkrankungen oder Veränderungen im Leber-Gallenwegsbereich zu zeigen und um den Weg zu gezielter und evtl. auch breiterer Anwendung der beschriebenen Methode zu eröffnen.

Eine wichtige Voraussetzung der angewendeten Methode ist das Vorliegen eines steady-state-Stoffwechselzustandes hinsichtlich der untersuchten Parameter und deren möglicher Störgrößen mindestens über die Studiendauer hinweg. Einen Hinweis für das Vorliegen eines steady-state-Zustandes liefert die untersuchte Gallensäurekinetik dann schließlich selbst, wenn sich ein weitestgehend konstant exponentieller Abfall des Markierungsgrades der untersuchten Proben ergibt als Zeichen eines konstanten und kontinuierlichen Stoffwechsels. Ansonsten erscheint die genannte Voraussetzung mittels anamnestischer, laborchemischer, klinischer und diätetischer Beobachtung der Probanden weitestmöglich gesichert. Daß sich die untersuchten Gallensäurepools wie in einem Kompartiment verteilen und verhalten, wird ebenfalls durch die erhaltenen Kinetik-Kurven gezeigt. Eine gleichmäßige Verteilung der verabreichten Markierung im Pool zeigt sich ebenfalls anhand der erhaltenen Kurven. Durch die Lage der ersten Meßpunkte, die sich gut in die festgelegte Kurve einordnen ließen, zeigt sich, daß der Abstand von Markierungsgabe zu erster Messung ausreichend für eine Durchmischung der verabreichten Markierung mit dem endogenen Pool ist.

Auch konnte keine initiale ausgeprägtere bzw. über das auch von den vorhandenen Gallensäuren erzeugte übliche Maß hinausgehende Unterdrückung der Gallensäurenneusynthese in der Leber beobachtet werden; dies spricht für eine ausreichend kleine verabreichte Menge markierter Gallensäuren im Vergleich zum vorhandenen Pool (siehe Kap. 4.2).

Die verabreichten ^{13}C -markierten Gallensäuren tragen diese Markierung unmodifiziert über den gesamten Untersuchungs- und Analysezeitraum; hierüber bestehen in der Literatur keinerlei Zweifel. Ebenso können Schwankungen des natürlichen ^{13}C -Vorkommens ausgeschlossen werden, wie es auch keinerlei Hinweise auf eine differente Verstoffwechselung von ^{13}C -tragenden zu anderen Gallensäuren gibt, da diese Moleküle identische chemische und sterische Eigenschaften aufweisen und somit kein Erkennen der Markierung durch den Organismus erlauben. Für die hier verwendeten unkonjugierten primären Gallensäuren als Marker findet, wie beschrieben (vgl. 3.3.3.1), im Dünndarm eine besonders rasche und großteils bereits in proximalen Abschnitten ablaufende Resorption statt, die bei oraler Verabreichung der zehnfachen hier verwendeten Dosis mindestens 80-90% der gegebenen Menge beträgt (vgl.: 15,31,103,149), in unserem Falle also mindestens zu diesem Prozentsatz erfolgt sein sollte. Die Lösung der Markierung in Bicarbonat unter Rühren bis zur optischen Klarheit dient einerseits dazu, die Gallensäuren in einem flüssigen und dadurch trinkbaren Medium zu dispensieren und durch Vermeiden von Klumpung eine evtl. mangelnde Resorption zu verhindern, andererseits wird mittels alkalischer Lösung ein Einfluß von Magensäure bei der Passage zu verhindern gesucht und eine schnelle transgastrale Beförderung ins Duodenum ohne Gefahr einer Ausfällung im Magen erleichtert.

Die Verwendung stabil markierter Gallensäuren anstelle radioaktiv gekennzeichneteter ist nicht nur hinsichtlich fehlender

Strahlenbelastung ein Fortschritt: In Anbetracht der äußerst niedrigen Konzentrationen im Bereich von nmol/ml der primären Gallensäuren im Blut wären sehr hohe Dosen radioaktiver Marker notwendig, um Kinetiken in Serum beschreiben zu können; aus diesem Grunde waren diesbezügliche Serum-Galle-Vergleiche (vgl. Tab.10) auch nicht ausreichend erfolgreich: "... the possibility of sampling ... in peripheral plasma or serum has not been possible using radioactive tracers. The reason for this limitation is that the concentrations of bile acids in the peripheral circulation normally are so low that accurate measurement of their specific activities would require administration of unacceptably large quantities of radioactivity. The only practical method for conducting bile acid kinetic measurements in serum depends upon the use of bile acids labeled with stable isotopes" (33). Erst mittels stabiler Markersubstanzen und deren Messung im Serum mittels GC/MS/IR ist also die Untersuchung der Gallensäurekinetik in Serum verlässlich und vertretbar praktikabel geworden und rechtfertigt den methodischen und finanziellen Aufwand.

Die bisher zumeist gebräuchliche Kinetikuntersuchung in Galle erforderte ein- oder mehrfache duodenale Intubationen mittels Sonden. Sicher stellt aber das Einführen und Plazieren einer solchen Sonde, auch wenn es durch Geübte geschieht, mitunter eine erhebliche körperliche und seelische Belastung des Probanden dar, sollte unter radiologischer Kontrolle erfolgen und ist gelegentlich mit solch erheblichen Schwierigkeiten verbunden, daß eine Studiendurchführung mißlingt. Darüberhinaus stellt das Legen und Verweilen einer solchen Sonde eine mögliche Beeinflussung der Kinetikuntersuchung dar, indem oesophago-gastraler Übergang und auch Pylorus in ihrer Schließfunktion behindert sind, ein Reflux oder unkontrolliertes Abfließen jeweiliger Inhalte möglich ist (28) mit konsekutiv möglicherweise stimulierten verdauungsphysiologischen Abläufen

oder auch mechanische Schleimhautirritationen durch die Sonde stattfinden (16). Weiterhin von Relevanz sind Beobachtungen von READ et al (154), daß die Passagezeit durch den Dünndarm deutlich beschleunigt ist während intestinaler Intubation. Auf diese Weise wäre eine Beschleunigung des Gallensäuretransports und evtl. von deren Umsatzraten denkbar. Für den hier durchgeführten Vergleich war es notwendig, diese Schwierigkeiten nochmals in Kauf zu nehmen; bei ungehindertem Austausch von der EHC in den Blutkreislauf sollte sich ein etwaiger sondeninduzierter Störfaktor jedoch auf beide untersuchte Abschnitte hinsichtlich der Gallensäurekinetik gleich auswirken und daher hier vernachlässigbar sein. Kinetikuntersuchungen mit und ohne duodenale Intubation beim gleichen Probanden könnten einen möglichen Einfluß der Intubation klären helfen.

Die Gabe von Cholecystokinin zur Stimulation der Gallenblasenkontraktion führt, vergleichbar den Vorgängen bei Nahrungsübertritt vom Magen in den Darm, zu Freisetzung von Galle ins Duodenum und damit vermehrter Gallensäurekonzentration dort, wobei die exogene CCK-Zufuhr in den von uns gewählten, üblichen Dosen zu einer weitaus stärkeren Stimulation führt als es endogene nahrungszufuhr-induzierte CCK-Freisetzung vermag (7). Bei intravenöser CCK-Zufuhr steht die (szintigraphisch kontrollierte) Gallenblasenkontraktion in einem weitgehend linearen Verhältnis zur verabreichten Dosis (177). Die von uns verwendete nicht-invasive sonographische Kontrolle der CCK-induzierten Gallenblasenkontraktion wird von EVERSON et al (49) beschrieben als einfache und genaue Methode zur Bestimmung von Gallenblasengröße und -kontraktion, was auch wir bestätigen konnten. Für mögliche andersgeartete CCK-Einflüsse, insbesondere ebenfalls eine beschleunigte Darmmotilität (34) und modifizierte Pylorusfunktion (167,168) gilt oben für Sonden Gesagtes entsprechend, daß nämlich ein differenter Einfluß auf Se-

rum- oder Gallekinetik nicht wahrscheinlich ist. Die erwähnten möglichen CCK-Einflüsse und auch die häufig von uns zu beobachtenden Nebenwirkungen wie transientes Hitze- oder Übelkeitsgefühl lassen sich bei künftiger alleiniger Serumkinetik-Untersuchung vermeiden, wenn zur Gallenblasenstimulation auf natürliche Weise Nahrung verwendet werden kann, welche bei Kinetik in Galle die Galleprobenabnahme durch Verunreinigung erheblich stören würde. ASHKIN et al (7) finden auch bei Cholecystektomierten einen verstärkten postprandialen Gallefluß, wobei sich nur die peak-Höhe, nicht aber die Gesamtmenge von den bei Gesunden gefundenen Werten unterscheidet, was sich mit der Funktion des Sphincter Oddi und der Gallenwege erklären läßt. Aus diesem Grunde erhielt auch der Proband HR, bei dem Z.n. Cholecystektomie vorlag, CCK injiziert, um eine den übrigen Probanden vergleichbare Situation zu schaffen.

Bei mehreren Probanden (vgl. Tab.4) wurde neben einer simultan mit der nach CCK-Gabe gewonnenen Galleprobe abgenommenen Serumprobe zusätzlich etwa 90min später eine postprandiale Serumprobe entnommen. Dies erfolgte unter der Vorstellung, daß dieser postprandiale Serumwert physiologisch besser zu dem betreffenden Galle-Wert korrelierbar ist als eine simultane Probe; bildlich gesprochen würden die aus der Gallenblase induziert freigesetzten Gallensäuren dann via spill over sich in der Blutzirkulation befinden. Der Zeitpunkt von 1.5h postprandial bzw. hier nach CCK-Gabe wurde in Übereinstimmung mit Arbeiten von SETCHELL et al (172), LaRUSSO et al (107), CAREY (27) und PONZ de LEON et al (148) gewählt: Zu diesem Zeitpunkt werden im Serum morgens postprandial für CA und CDCA die höchsten Konzentrationen gemessen. Das peak-Maximum für CA wird etwa 1.5h, dasjenige für CDCA etwa 1h postprandial gefunden, wobei CDCA auch 1.5h postprandial noch deutlich gegenüber dem

Nüchtern-Zustand erhöht gemessen wird. Den Einfluß einer alleinigen CCK-Gabe mit dem eines Frühstücks verglichen PONZ de LEON et al (148), wobei sie bei CCK-Verabreichung ein rasches und anhaltendes Ansteigen der CA-Serumkonzentrationen finden, das im Vergleich zur Frühstückseinnahme betonter ist; für CDCA finden sie ebenfalls einen raschen Anstieg, jedoch nach 2h bereits wieder Ausgangswerte nach alleiniger CCK-Gabe. Die unterschiedlichen Verläufe werden mit einer nach Nahrungszufuhr protrahierten Gallenblasenkontraktion durch allmählichen Nahrungsübertritt erklärt. Wir wählten daher die CCK-Gabe (zum Erhalt einer nicht mit Nahrungsbestandteilen kontaminierten Duodenalgalleprobe) kombiniert mit einem reichhaltigen Frühstück (zum Erhalt möglichst physiologischer postprandialer Verhältnisse). Auch bei Cholecystektomierten finden LaRUSSO et al (107), zumindest für CA, ein entsprechendes postprandiales Konzentrationsmaximum, weshalb wir den beschriebenen Zeitpunkt auch bei HR einhielten. Das von uns gewählte kombinierte Vorgehen sollte zu einer raschen und anhaltenden Gallenblasenkontraktion führen. Ob die hierbei freigesetzten Gallensäuren dann auch diejenigen darstellen, deren spill-over-Anteil 1.5h später im Serum zu finden ist, kann nicht sicher entschieden werden, spielt aber für kinetische Betrachtungen und die Messung des $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Anteiles auch keine Rolle; möglich und denkbar wäre auch ein mehrmaliges Durchlaufen von EHC-Cyklen in dieser Zeit oder ein prolongiertes Involviertsein der betreffenden Gallensäuren in Verdauungsvorgänge. Vergleichend zeigte sich bei unseren Messungen zwar eine geringfügige Differenz der mit Nüchternproben von den mit postprandialen Proben gefundenen Werte ohne Richtungstendenz, die aber für die Beschreibung der Kinetik unerheblich war, so daß zumeist beide Werte in die Berechnungen einbezogen wurden (vgl. als Beispiel Abb.7 und 8).

Die Zeitabstände und Zeitpunkte sowie die entnommenen Mengen der jeweiligen Proben erwiesen sich als gut in den Krankenhaus-

ablauf integrierbar, die entnommenen Mengen erscheinen hinsichtlich Probandenbelastung und auch hinsichtlich etwaiger Veränderungen des Pools vertretbar, sind bei nur 2ml Serum, die zur Weiterverarbeitung benötigt werden (vgl. 5.3), jedoch künftig weiter reduktabel.

Eine über obiges Maß (Kap.5.3 und 5.4) hinausgehende Besprechung der Probenverarbeitung und der GC/MS/IR-Methodik soll hier nicht erfolgen, es wird auf diesbezügliche Arbeiten verwiesen (180, 181).

7.2 Wertung der Ergebnisse

Sowohl für CA (Tab.5) als auch für CDCA (Tab.6) lassen sich aus den ermittelten atom%excess-Werten der einzelnen Proben für Serum und auch für Galle bei allen untersuchten Probanden mit guten Korrelationen Kinetik-Kurven festlegen, wenn man vielleicht von der Serum-CDCA-Kurve bei Proband EG absieht. Es läßt sich kein Trend ablesen, ob Galle- oder Serumwerte verlässlichere Aussagen zulassen, beide erweisen sich als zufriedenstellend. Mehr als 6-7 Serumwerte waren zumeist nicht notwendig zur Kurvenbeschreibung mit guter Genauigkeit, was mit Aussagen von HOFMANN und HOFFMAN (78) übereinstimmt.

Die gute Übereinstimmung der Serumwerte mit den in Galle gewonnenen kann als Zeichen eines sehr raschen und freien Austausches primärer Gallensäuren zwischen diesen beiden Abschnitten angesehen werden und findet sich auch bei den untersuchten Patienten mit Leberfunktionsstörungen. Der jeweils exponentielle Abfall der atom%excess-Werte darf als Zeichen dafür gewertet werden, daß sich primäre Gallensäuren in EHC und Blutkreislauf wie in einem Kompartiment verteilen. Zukünftige Rückschlüsse von Serumkinetiken auf das Verhalten primärer Gallensäuren in

der EHC erscheinen daher möglich, und zwar nicht nur bei Gesunden sondern auch bei Patienten mit den beschriebenen Veränderungen. Bei den fraktionellen Umsatzraten fällt für CA zu- meist ein deutlich höherer Wert auf als für CDCA (Tab.7); dieses Ergebnis liegt in guter Übereinstimmung mit veröffentlichten Befunden anderer Arbeitsgruppen (s.u.). Lediglich bei einer gesunden Probandin (EG) findet sich eine erhebliche Diskrepanz der in Serum bestimmten Umsatzrate von der in Galle für CA; die Poolgröße von CA jedoch läßt sich mit sehr guter Übereinstimmung (Tab.8) festlegen, weist aber den höchsten der ermittelten Werte auf. Die nur für CA zu findende Diskrepanz der Umsatzraten läßt sich nicht ausreichend mit Resorptionsstörungen oder etwa inadäquater Marker-Dosierung erklären; sie spräche für eine raschere Verdünnung der Markierung im Serum durch neusynthetisierte CA als sie in Galle stattfände bzw. würde ein gewisses Konservieren der Markierung in Gallenwegsabschnitten andeuten, woran vorbei neusynthetisierte CA fließen würde. Auch bei fehlender schlüssiger Erklärung der erwähnten Diskrepanz bei einer Probandin sollte diese eine Ausnahme für eine der beiden primären Gallensäuren und auch nur für einen der wichtigen Kinetikparameter in Anbetracht der übrigen, gut übereinstimmenden Resultate nicht die Validität der durchgeführten Vergleiche anzweifeln lassen.

Die oben aufgeführten Ergebnisse erlauben den Schluß, daß die wesentlich einfachere, sichere und deutlich komfortablere Untersuchung der erwähnten Parameter im Serum die Kinetiken der beiden primären Gallensäuren hinreichend genau beschreiben läßt und auch bei Erkrankungen mit Veränderung der Leber- oder Gallenwegsfunktion möglich ist. Bei den beiden Probanden, bei denen lediglich die Serum-Kinetiken untersucht werden konnten, ergeben sich hierbei Ergebnisse, die durchaus sich im Rahmen der bei den anderen Probanden gefundenen Werte bewegen und auch

mit in der Literatur veröffentlichten Befunden (s.u.) übereinstimmen, also ebenfalls als valide Werte ansehbar sind.

In Anbetracht des kleinen Kollektivs muß die zu beobachtende breite interindividuelle Streuung der Kinetikparameter (Tab.7, 8,9) als Beobachtung bestehen bleiben und kann allenfalls mit den Ergebnissen anderer verglichen werden (s.u.), erlaubt jedoch keine Vergleiche etwa der gesunden Probanden mit den Erkrankten. Die große Breite der Ergebniswerte kann als Hinweis auf eine mögliche sinnvolle Anwendung der vorliegenden Methode gelten, nämlich den intraindividuellen Vergleich. Als auffälliges Ergebnis soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß bei den Probanden mit Cholestase bei Leberzirrhose für CA eine doch deutlich reduzierte Syntheserate gefunden wird bei hohen Serumgesamtgallensäurespiegeln (Tab.3), die Poolgröße zumindest als im Vergleich niedrig angegeben werden kann. Insbesondere Erstes stimmt gut mit anderen Veröffentlichungen überein (Tab.11). Bei HH, der lediglich einen fibrotischen Leberumbau sowie ein transientes Zieve-Syndrom aufweist, können o.g. Trends nicht bestätigt werden, was evtl. für eine gute Diskrimination anhand der CA-Syntheserate spricht. Da eine spätere Ausweitung der beschriebenen Methode insbesondere zur Untersuchung von cholestatischen Erkrankungen sinnvoll erscheint, sollen hier anhand eines Exkurses die hierbei und bei Leberzirrhose wesentlichen Veränderungen des Gallensäurestoffwechsels beschrieben werden, wie sie auch für drei unserer Probanden relevant erscheinen:

Cholestase: Als Cholestase werden Erkrankungen bezeichnet mit einer Ausscheidungsstörung der Galle auf ihrem Weg von der Leberzelle zum Duodenum (127). Die mit Begriffsbestimmung, Eingrenzung, Einteilung verbundene Problematik sei hier nicht weiter erörtert (vgl. hierzu z.B. POPPER (150), JAVITT (89)).

Bei Cholestase werden vermehrt Stoffwechselabläufe aktiviert, die Gallensäuren wasserlöslicher formen und dadurch ihre renale Ausscheidung verbessern, wie z.B. vermehrte Konjugation mit Taurin (27,68,114,184), Sulfatierung und Glucuronidierung (s.o.). Bei Cholestase ist wie bei Leberzirrhose (s.u.) eine Hemmung der Synthese primärer Gallensäuren zu beobachten (81, 129,184,188). Durch verminderten Anfall primärer Gallensäuren im Intestinum können weniger sekundäre Gallensäuren gebildet werden, letztere sind daher in ihren Konzentrationen in Faeces (97), Serum, Urin und Galle (14,184) stark vermindert.

Neben veränderten Charakteristika der Gallensäuresynthese werden bei Cholestase zusätzliche, sonst nicht oder nur in äußerst geringen Mengen vorhandene Gallensäuren gefunden: Auch bei Patienten mit biliärer Atresie wird LCA gefunden, deren unter diesen Gegebenheiten mögliche Synthese in der Leber diskutiert (BACK, zit.n.184); 3 β -hydroxy-5-cholenic acid kann bei Cholestase synthetisiert werden (25,184); UDCA wird möglicherweise aus Cholesterin gebildet (184); neben 6 α -hydroxylierten Gallensäuren wie Hyocholsäure (192) werden 27-C-Gallensäuren (192), 6 β -hydroxylierte (3,25), Hyodeoxycholsäure (163, 192), tetrahydroxylierte (3) ebenfalls gefunden, um nur einige dieser sog. atypischen Gallensäuren zu nennen, die in ihrer Bedeutung noch unvollständig charakterisiert sind. Einige dieser "atypischen" Gallensäuren werden bei Untersuchungen des fetalen Stoffwechsels und auch noch bei Neugeborenen bzw. Kleinkindern vermehrt nachgewiesen (189,210), was auf eine mögliche Reaktivierung von supprimierten Stoffwechselwegen beim Erwachsenen unter Cholestase hinweist. Ob allerdings unter Cholestase CDCA zu CA konvertiert wird (wie SAMUELS und PALMER (in vivo (165)) und YOUSEF und FISHER (in vitro (221)) meinen), muß derzeit wohl noch offen bleiben. Ob die Sulfatierungsreaktion bei Cholestase nur in der Leber oder evtl. auch in der Niere möglich ist,

wird unterschiedlich diskutiert (14,70,121,183,184,186,187,193), teils auch Haut (183) oder Nebennieren (186) als Sulfatierungsorte genannt. STIEHL et al (182) und MAKINO et al (117) finden bis zu 80% sulfatierte Gallensäuren im Urin bei Cholestase unterschiedlicher Genese, wobei mono-, di- und trisulfatierte in stark abnehmender Häufigkeit vorkommen (186). Da die renale Clearance sulfatierter Gallensäuren 10-15 x größer ist als für unsulfatierte, werden im Serum nur 10-20% sulfatierte Gallensäuren gefunden (184,186). Dihydroxygallensäuren wie CDCA sind zu weit größeren Anteilen sulfatiert bei Cholestase als Trihydroxygallensäuren wie CA (25); dies erklärt deren anteilmäßiges Überwiegen im Urin im Gegensatz zum Serum (14,117,193). Gesamt-CA und -CDCA finden SUMMERFIELD et al (193) in Serum, Urin und Galle von Cholestasepatienten zu etwa gleichen Anteilen. Einen weiteren möglichen Mechanismus zur verbesserten Elimination von Gallensäuren bei Cholestase stellt deren Glucuronidierung dar. Sowohl Hydroxyl- als auch Carboxylgruppen dienen als Angriffspunkte der UDP-Gulucuronyltransferase (60). BACK et al (9) beschreiben, daß nicht nur freie sondern auch konjugierte Gallensäuren glucuronidiert ausgeschieden werden.

Leberzirrhose: In vielen Merkmalen des Gallensäurestoffwechsels ähnelt dieses Krankheitsbild zuletzt Beschriebenem, da ja ein wichtiger Anteil dieser Erkrankung mit cholestatischen Schüben oder auch einer persistierenden Cholestase verläuft. Erhöhte Serumgallensäurespiegel finden RUDMANN und KENDALL (161), wobei insbesondere Dihydroxygallensäuren dafür verantwortlich seien; dies bestätigt Ergebnisse von CAREY (zit.n. 161,184). Auch VLAHCEVIC et al (205) beschreiben, daß bei Leberzirrhose das Verhältnis Trihydroxy- zu Dihydroxygallensäuren vermindert ist. Erklärt wird dies mit einer reduzierten CA-Synthese (205). Auch unsere Ergebnisse bestätigten dies

tendenziell (s.o.). Die verminderte CA-Synthese bei Leberzirrhose kann durch eine Hemmung durch die erhöhten Gallensäurekonzentrationen im Blut mittels feed-back-Mechanismus erklärt werden (vgl. oben). Arbeiten von BLUM und SPRITZ (22), BOREL et al (23,24), GILMORE und THOMPSON (65) zeigen eine deutlich verminderte Clearance-Kapazität der Leberzellen für Gallensäuren bei Zirrhose, so daß die erhöhten Serumspiegel noch stärker zum Tragen kommen. LUEY und HEATON (115) allerdings können diese verschlechterte Clearance (mit i.v. verabreichter GCA) nicht bestätigen. Als Erklärung für die anscheinend stärkere Unterdrückung der CA-Synthese im Vergleich zu der von CDCA führen VLAHCEVIC et al (207) einen möglichen Enzymmangel des CA-Weges an; während diese Gruppe zunächst die CA-Synthese bei Zirrhose als auf etwa 25% der normalen Rate und die von CDCA auf 30% reduziert angeben, zeigen sie in einer späteren Übersicht (208, vgl. auch 153) Werte bis zu 75% eingeschränkter CA-Synthese, während die CDCA-Synthese unverändert sei. Insbesondere der 12 α -Hydroxylierungsschritt, der nur in die CA-Synthese involviert ist (Abb.2), wird bei Zirrhose als eingeschränkt angesehen (208). PATTESON et al (139) bestätigen dies, meinen jedoch, daß nicht nur ein einzelner Schritt verändert sei. Auch für DCA werden verminderte Anteile in Serum, Galle und Urin gefunden (208), wofür entweder eine verminderte Bildung aus CA oder ein verstärkter Abbau verantwortlich seien (207). Das Verhältnis Glycin- zu Taurinkonjugierter Gallensäuren ist bei Zirrhose ähnlich verschoben wie bei Cholestase (s.o.).

Beim Probanden HR liegt neben einer Leberzirrhose auch bereits ein Hepatom vor; bei Patienten mit Hepatom werden normale Serumgallensäurespiegel und ein normales Verteilungsmuster darin gefunden (128); die bei HR zu beobachtenden hohen Serumspiegel (Tab.3) sind daher wohl aus der Leberzirrhose sowie der bereits vorliegenden Cholestase zu erklären. Zudem besteht bei

diesem Patienten ein Z.n. Cholecystektomie, wie auch bei MH. Bei cholecystektomierten Patienten zeigen HEPNER et al (75), bestätigt von ALMOND et al (4) sowie KIMBALL et al (100), eine im Vergleich zu Gesunden unveränderte Syntheserate der primären Gallensäuren. Die bakterielle Modifikation sei allerdings verstärkt (vgl. auch 146), was die prozentuale Vermehrung sekundärer Gallensäuren erklärt (13,75,174). Neben vermehrt sekundären finden MALAGELADA et al (119) auch bis zu 25% keto-Gallensäuren. Der erhöhte Anteil sekundärer Gallensäuren nach Cholecystektomie wird in letzter Zeit im Zusammenhang mit evtl. assoziiert gehäuften Colonkarzinomen diskutiert (207,217). Bei unseren Probanden liegt kein reines Bild nach Cholecystektomie vor; in Anbetracht der aufgeführten Ergebnisse wäre jedoch ein intraindividueller Vergleich vor und nach Cholecystektomie insbesondere mit der hier beschriebenen Methode lohnend.

Zwei der Probanden (MH,KW) hatten wegen Choledochuskonkrementen eine Papillotomie durchgemacht. Diesbezüglich zeigen STELLAARD et al (179) bei Patientinnen nach Papillotomie einen vermehrten CDCA-Anteil in der Galle sowie, zumindest tendenziell, reduzierten Anteil sekundärer Gallensäuren im Vergleich zu nur cholecystektomierten und nicht auch konsekutiv papillotomierten Patienten. SAUERBRUCH et al (166) zeigen bei Probanden, die ohne vorausgehende Cholecystektomie papillotomiert worden waren, einen reduzierten Gesamtgallensäurepool; Patienten mit vorher stattgehabter Cholecystektomie zeigen dieser Arbeit zufolge keine signifikanten Änderungen des Gesamtgallensäurepools. Zu diesen Befunden paßt gut die durchschnittliche Poolgröße bei MH, wobei CDCA eher niedrig gefunden wird (Tab.8). Bei Z.n. Papillotomie und auch Cholecystektomie sind die hohen Umsatzraten für beide primären Gallensäuren bei MH verständlich (Tab.7). Bei KW hingegen finden sich, bei erhal-

tener Gallenblase, eher durchschnittliche Umsatzraten und auch Poolgrößen.

Bei BK liegt zusätzlich zur Leberzirrhose eine Cholelithiasis vor, aufgrund derer wir die CCK-Dosis reduziert hatten, um nicht etwa Koliken auszulösen. Der Stoffwechsel von Gallensäuren bei Steinbildung ist im Zusammenhang mit möglicher medikamentöser und andersgearteter Litholyse intensiv untersucht worden, auf eine ausführliche Besprechung soll daher hier verzichtet werden unter Hinweis auf kürzlich erschienene Übersichten (84) und wichtige Arbeiten (76,136,137,143,145,174,204).

Auswirkungen von Medikamenten, mit denen insbesondere die hier untersuchten Zirrhose-Kranken oftmals langfristig behandelt werden, sind nur spärlich untersucht worden. Lactulose, welche BK erhielt, ist ein allenfalls gering resorbierbares Kohlenhydratpräparat, das von Darmbakterien zu organischen Säuren verstoffwechselt wird und dadurch den intraluminalen pH-Wert senkt; Gesunde zeigen hierunter eine prozentuale CDCA- und CA-Vermehrung sowie DCA-Verminderung in der Galle (199). Sekundär sind durch die Darmfloraveränderungen und pH-Änderungen Modifikationen des Stoffwechsels primärer Gallensäuren unter diesem Medikament (wie auch unter Neomycinsulfat) denkbar. L-Thyroxin, welches die Probandin KK erhielt, soll den CA-Turnover erhöhen, was jedoch nicht sicher nachzuweisen ist (124).

Wie aus Tab.9 ersichtlich liegen die Syntheseraten von CA und CDCA außer bei sehr schwerwiegenden Lebererkrankungen (BK,HR) über einen weiten Bereich unterschiedlicher Umsatzraten und Poolgrößen hinweg bei allen übrigen Probanden in einem eher engen Bereich beisammen. Hierin zeigt sich die Fähigkeit der Leber, auch auf ausgeprägte Veränderungen von Umsatzrate oder Poolgröße der primären Gallensäuren durch Störfaktoren wie z.B.

veränderte Funktion des Sphinkter Oddi oder fehlender Gallenblasenfunktion in der Hinsicht ausgleichend zu wirken, daß die andere Stoffwechselabläufe am stärksten tangierende Synthese weitgehend gleichmäßig aufrechterhalten wird. Hierbei sind natürlich auch die übrigen in die EHC und EEHC eingreifenden Mechanismen als Regulativ wirksam.

7.3 Vergleich mit veröffentlichten Ergebnissen anderer Untersuchungen

Nachfolgend sollen veröffentlichte Serum-Galle-Vergleiche der Kinetik primärer Gallensäuren beschrieben und zusammengefaßt (Tab.10) werden:

WILLIAMS et al (218) finden bei einem Patienten mit familiärer cholestatischer Zirrhose mit radioaktiv markierter CA eine vergleichbare CA-Umsatzrate in Serum und Galle, jedoch sehr differente Poolgrößen. Ebenfalls mit ^{14}C -markierter CA vergleichen ENGELKING et al (45) 1977 Poolgröße und Turnover in Serum bzw. Galle für CA; sie finden bei fünf Zirrhose-Kranken und sechs Patienten mit Gallenwegserkrankungen vergleichbare Resultate aus Serum bzw. Galle; bei fünf Normalpersonen können kinetische Parameter nur in Galle bestimmt werden, nicht jedoch in Serum, da hier die Gallensäurekonzentrationen zu niedrig für die verwendete Nachweismethode liegen. Dieselbe Arbeitsgruppe (46) veröffentlicht 1980 ausführlichere Ergebnisse bei gleichem Versuchsablauf: Bei Zirrhose-Kranken und Patienten mit sklerosierender Cholangitis können bei 7 von 11 Untersuchten über vier Tage hinweg Serum- mit Galle-Ergebnissen verglichen werden, bei vier der Patienten jedoch nur Serum-, bei fünf Normalpersonen nur Galle-Ergebnisse gewonnen werden. Es finden sich Poolgrößen von 15-93 $\mu\text{mol/kg}$, Synthese-

Tab. 10: Übersicht einiger Serum-Galle-Vergleiche zur Kinetik primärer Gallensäuren

Autor(en)	Jahr	Ref. ¹	Gallen- säure	Markie- rung	Applika- tion	Probanden- anzahl	Bemerkungen
WILLIAMS et al	1972	218	CDCA	¹⁴ C	9µCi iv	1	FTR vergleichbar, Poolgröße different
ENGELKING et al	1977	45	CA	¹⁴ C	50µCi iv	16	Bei Gesunden kein Vergleich möglich, bei Lebererkrankten vergleichbare Ergebnisse in Serum bzw. Galle
ENGELKING et al	1980	46	CA	¹⁴ C	50µCi iv	16	Bei 7 von 11 untersuchten Patienten Vergleich möglich, nicht bei Gesunden und 4 der studierten Patienten
TATEYAMA et al	1978	198	CDCA	² H	oral	4	Bei Gesunden Vergleich möglich, keine Angaben für Erkrankte
FUJISAWA et al	1980	61	CDCA	² H	200mg oral	?	Bei vier von fünf Probanden gute Korrelation, differente Serum- und Galleabnahmezeiten
EVERSON et al	1981	50	CA	¹³ C	25mg oral	5	Gesunde Probanden, gute FTR-Korrelation, leidliche Poolgrößen-Übereinstimmung
EVERSON et al	1982	51	CDCA	¹³ C	50mg oral	3	"double-label-technique", nur eine abzunehmende Serumprobe, bei drei der vier Probanden gute Übereinstimmung der FTR
EVERSON et al	1984	53	CDCA	² H, ¹³ C	je 25mg oral	4	Gleiche Technik wie zuvor, erweiterte Probandenzahl, gute Übereinstimmung der Kinetikparameter in Serum mit denen in Galle
EVERSON	1984	52	CDCA	² H, ¹³ C	je 25-35mg oral	6	

¹ Referenz siehe Literaturverzeichnis

raten von 0.9-17.7 μ mol/kg/Tag; die Korrelationskoeffizienten des Serum-Gallevergleichs betragen 0.2-0.97.

Die Kinetik nicht-radioaktiv markierter CDCA, in diesem Falle Deuterium-markierter, vergleichen TATEYAMA et al (198) 1978 bei vier Probanden. Ebenfalls mittels Deuterium-Markierung von CDCA finden FUJISAWA et al (61) 1980 bei Gesunden in Serum mit Galle vergleichbare Werte für die Kinetik von CDCA; in Serum werden Poolgrößen von 517 ± 147 mg, in Galle 726 ± 130 mg angegeben, Umsatzraten entsprechend mit 0.551 ± 0.096 bzw. 0.519 ± 0.084 , Syntheseraten in Serum von 247 ± 24 mg/Tag bzw. in Galle von 354 ± 37 mg/Tag; für die ebenfalls untersuchten Gallensteinträger und Cholestase-Patienten fehlen Angaben.

1981 vergleichen EVERSON et al (50) bei fünf weiblichen Normalpersonen die Kinetik von CA in Serum mit der in Galle nach oraler Gabe von 25mg ^{13}C -markierter CA; allerdings erfolgt hierbei keine simultane Abnahme der Galle- bzw. Serumproben sondern eine um Tage zeitlich versetzte Probengewinnung. Bei vier der fünf Probanden zeigt sich eine gute Übereinstimmung von Umsatzrate, Poolgröße und Syntheserate mit Abweichungen der Serumergebnisse von denen in Galle von 9.5, 7.3 und 3.5%. Die Umsatzraten werden von 0.14-0.82 bestimmt, die Poolgrößen von 11.6-48.3 μ mol $\cdot$ kg $^{-1}$, die Syntheseraten zwischen 6.8 und 10.9 μ mol $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ Tag $^{-1}$. Hieraus folgern die Autoren: "In normal subjects serum CA kinetics closely approximate biliary CA kinetics. Complete BA kinetics from serum samples should soon be feasible making duodenal intubation unnecessary".

Die gleiche Arbeitsgruppe (51) zeigt im folgenden Jahr bei drei gesunden Frauen nach oraler Gabe von 50mg ^{13}C -markierter CDCA Kinetik-Vergleiche für diese primäre Gallensäure. An 4-5 Tagen werden weitgehend simultan Serum- und Galleproben gewonnen;

aus Galle werden um ca. 10-12% größere Pool-Werte gefunden als aus Serum (vgl. auch FUJISAWA (61), s.o.); die Serum-Werte zeigen eine bessere Übereinstimmung zu den nach Gallenblasenkontraktion gefundenen Werten in Duodenalgalle als zu den im Nüchternzustand abgenommenen Proben. Ob allerdings bei nur drei untersuchten Probanden der Schluß dieser Autoren zulässig ist, muß dahingestellt bleiben: "Differences in CDC (= CDCA, Anm.d.Verf.) pools calculated from serum and bile are due to differences in isotope dilution in the compartment samples. During fasting newly synthesized CDC dilutes ^{13}C -CDC in hepatic bile and to a lesser extent in GB (= gall bladder, Anm.d. Verf.) bile, which contains a mixture of 'new' and 'old' CDC" (51). Zusammenfassend veröffentlichen DeMARK et al (33) 1982 ihre Ergebnisse und heben hervor, daß mit 5ml Serum je Probe entweder für CA oder für CDCA mit ^{13}C -Markierung gute Kinetiken der primären Gallensäuren in Serum beschreibbar sind.

Eine weitere Verfeinerung ihrer Methodik beschreiben EVERSON und FENNESSEY (53) 1984, wobei sie vier Probanden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen ^{13}C - und ^2H -markierte CDCA oral verabreichen und mit einer einzelnen konsekutiv abgenommenen Serumprobe die CDCA-Kinetik hinreichend genau bestimmen können. Die Zahl der untersuchten Probanden für diese Methodik kann EVERSON (52) kürzlich auf sechs erweitern, wobei zusätzlich ebenfalls die nüchtern gewonnenen Werte mit solchen nach Stimulation der Gallenblasenkontraktion gewonnenen verglichen werden; genaue Zeitangaben über letztere, als postprandial anzusehende Abnahmen liegen jedoch nicht vor. Für Serum werden nüchtern (nach Stimulation) Umsatzraten von 0.33 ± 0.24 (0.33 ± 0.29) angegeben, für Galle 0.35 ± 0.24 ; Poolgrößen von CDCA werden entsprechend mit $717 \pm 406\text{mg}$ (692 ± 474) für Serum bzw. $675 \pm 438\text{mg}$ angegeben, woraus sich Syntheseraten von 192 ± 107 (172 ± 105) mg/Tag in Serum bzw. 209 ± 140 in Galle ergeben.

In diesen Zusammenhang von Untersuchungsergebnissen reihen sich unsere Befunde ein, wobei zum Einen die simultane Kinetik von CA und CDCA zugleich beschrieben wird für stabile Isotopenmethodik in Serum und zum Anderen diese Methode erstmals an einer größeren Probandenzahl unter Einschluß von Patienten mit hepatobiliären Erkrankungen valide Werte aus Serum verglichen mit Galle ergibt. Die veröffentlichten Daten anderer Serum-Galle-Vergleiche (Tab.10) sind in ihren Größen unseren Ergebnissen vergleichbar: Für CA finden EVERSON et al (50) (jeweils in Serum) bei vier Gesunden Umsatzraten von 0.19-0.80, Poolgrößen von $12.5-40.4 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ sowie Syntheseraten von $7.8-10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; für CDCA zeigen diese Autoren (51) bei drei Gesunden Umsatzraten von 0.19-0.29, Poolgrößen von $9.2-16.0 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ sowie Syntheseraten von $2.64-3.93 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Wichtig ist auch die Feststellung, daß unsere Ergebnisse auch mit solchen gut vereinbar sind, die auf herkömmliche Weise in Galle gefunden wurden (Tab.11). Der bei uns gefundene hohe Wert für CDCA-Pool und -Synthese bei den untersuchten Zirrhosekranken (BK,HR,HH) darf in Anbetracht des hohen Einzelwertes bei BK nicht verwundern; zudem ist diese Patientin auch Gallensteinträgerin, während HR auch cholecystektomiert ist, HH lediglich eine Leberfibrose aufweist, hier also keine reinen Krankheitsbilder vorliegen.

7.4 Anwendbarkeit

Die Untersuchung der Gallensäurekinetik erscheint zur Erfassung einer Vielzahl wichtiger Stoffwechselabläufe und Veränderungen sinnvoll anwendbar: Erfassung der hepatozellulären Syntheseleistung sowie Poolgröße und Umsatzrate (wie hier angewendet), der Konjugation der primären Gallensäuren in der Leber mittels Kinetik des Aminosäurenanteiles, des input's sekundärer Gallen-

Tab. 11: Vergleich einiger veröffentlichter Kinetikdaten der primären Gallensäuren¹

Autor	Jahr	Ref. ²	FTR (d ⁻¹)	Poolgröße (mg)	Tägl.Syntheserate (mg·d ⁻¹)
Daten für CA bei Gesunden					
LINDSTEDT	1957	113	0.26	1380	360
HEPNER	1971	73	0.38	1126	428
VLAHCEVIC ⁴	1971	206	0.32	1040	333
LaRUSSO	1977	109	0.22	1506	289
RODA	1978	160	0.28	854	239
RUTGEERTS	1982	162	0.35	1170	410
VANTRAPPEN	1981	203	-	1340	-
Hier ³			0.48	732	292
Daten für CA bei Leberzirrhose-Patienten					
BLUM	1966	22	0.26	1400	360
VLAHCEVIC	1971	205	0.19	630	101
VLAHCEVIC	1972	207	0.17	480	84
EINARSSON	1975	40	0.29	548	142
McCORMICK	1973	122	0.22	475	110
STIEHL	1978	185	0.21	513	90
Hier ³ (BK,HR,HH)			0.26	500	143
Daten für CDCA bei Gesunden					
LINDSTEDT	1957	113	-	1450	-
HEPNER	1972	74	0.30	632	185
VLAHCEVIC ⁴	1971	206	0.23	810	162
VLAHCEVIC	1971	205	-	830	-
LaRUSSO	1977	109	0.18	1422	239
RUTGEERTS	1982	162	0.20	1379	276
Hier ³			0.24	713	184
Daten für CDCA bei Leberzirrhose-Patienten					
VLAHCEVIC	1972	207	0.21	620	114
EINARSSON	1975	40	0.25	684	177
McCORMICK	1973	122	0.24	580	124
STIEHL	1978	185	0.28	477	118
Hier ³ (BK,HR,HH)			0.20	1060	211

¹Aufgeführt sind Mittelwerte, teils aus den Angaben berechnet
²Referenz siehe Lit.-Verz.

³Daten der Serum-Ergebnisse

⁴Patienten ohne Lebererkrankung

säuren, der Verstoffwechselung primärer Gallensäuren mittels Erfassung der atom%excess-Werte der Stoffwechselprodukte, des Verhaltens primärer Gallensäuren in extraenterohepatischen Bereichen wie Serum (hier), aber auch beispielsweise Ascites, Urin oder anderer Gewebe oder Flüssigkeiten, der renalen Eliminationsrate, der Beurteilung der intestinalen Resorption, der Erfassung der bakteriellen Dekonjugationstätigkeit mittels Mitbestimmung der Kinetik des Aminosäureanteils (vgl. 27,81). Die genannten Vorgänge sind in eine Vielzahl physiologischer und pathophysiologischer Abläufe in Leber, Gallenwegen und Darm involviert. Eine Untersuchung der Gallensäurekinetik aus Serumproben ohne belastende Nebenwirkungen kann daher Wichtigkeit erlangen zur Charakterisierung vieler Krankheitsverläufe; insbesondere die gefahrlose Möglichkeit mehrfacher aufeinanderfolgender Studien beim gleichen Probanden, wie sie mittels der hier vorgestellten Methode durchführbar ist, erscheint als eine sinnvolle Anwendungsmöglichkeit zur besseren Charakterisierung noch unzureichend erhellter Abläufe bei verschiedenen chronisch-persistierenden oder -progredienten hepatologischen oder gastroenterologischen Krankheitsbildern. Die mögliche Funktionsüberprüfung der Leberzellen, Gallenwege und des Darmes hinsichtlich des Gallensäurestoffwechsels und hiermit zusammenhängender Abläufe kann ebenfalls als gute Anwendungsmöglichkeit angeführt werden. Über ein besseres Verstehen pathogenetischer Gesichtspunkte können sich dann mögliche therapeutische Gesichtspunkte ergeben, wobei gerade auch ernste Erkrankungen wie z.B. Colonkarzinom oder Leberzirrhose als Zielpunkte anzusehen sind.

Einschränkungen der Anwendbarkeit der hier verwendeten Methode ergeben sich aus der hochspezialisierten und -technisierten und nicht zuletzt auch arbeitsaufwendigen Auswertung und, zu-

mindest bisher noch, aus der teuren Herstellung stabil markierter, natürlich vorkommender Substanzen in den benötigten Mengen. Einschränkungen aus physiologischen Gründen ergeben sich, wenn o.g. (s.4.2) Voraussetzungen nicht erfüllt sind, insbesondere auch bei fehlendem steady-state-Zustand, wie es bei allen sich rasch ändernden Krankheitsverläufen der Fall ist (z.B. Verschlußikterus, Leberversagen, ausgeprägte Diarrhoen), bei nicht möglicher ausreichend rascher Durchmischung der verabreichten Markierung (z.B. bei Resektion der wichtigen Darmabschnitte, stark reduzierter intestinaler Motorik, Gallensäureverlustsyndrom (105)) mit dem vorhandenen Pool, bei inadäquat dosierter Markierungsmenge, um einige Punkte anzusprechen.

Der Hauptvorteil der vorgestellten Methode liegt sicherlich in der äußerst geringgradigen Beeinflussung von Stoffwechselabläufen im Vergleich zu herkömmlicher Methodik (Untersuchung bei erhaltener EHC, Verwendung körpergleich vorkommender Markersubstanzen, geringe Abnahmemengen) sowie den fehlenden Risiken für Probanden bei problemloser Durchführbarkeit. Die Beobachtung über viele EHC-Zyklen hinweg ist unabhängig von kurzfristigen Stoffwechseleränderungen, denen beispielsweise reine Konzentrationsbestimmungen unterliegen. Die Anwendbarkeit beim Menschen vermeidet teils anzweifelbare Rückschlüsse vom Tiermodell oder von Zellkulturen bzw. anderen in-vitro-Untersuchungen.

Ein prima vista simpler erscheinender Ansatz beispielsweise der Synthesemessung für primäre Gallensäuren wäre die quantitativ vollständige Erfassung ausgeschiedener Gallensäuren, deren Menge unter steady-state-Bedingungen die neusynthetisierte Menge ausgleichen sollte. Die hierzu notwendig erscheinende vollständige Stuhl- und evtl. auch Urinsammlung über viele Tage hinweg (aufgrund der intra- und interindividuell schwankenden Stuhl-

frequenzen) ist in hohem Maße abhängig von der Mitarbeit der Probanden und schwer standardisierbar. Vergleiche zwischen Kinetik-Ergebnissen und Stuhlsammlung (letztere auch als "balance technique" bezeichnet, vgl. 78) sind nur unzureichend publiziert: HOFMANN und HOFFMAN (78) führen Vergleiche von MIETTINEN (124) an, der mittels Kinetik höhere Syntheseraten als mit Stuhlsammlung fand, während SWELL und VLAHCEVIC gut übereinstimmende Ergebnisse fanden. QUARFORDT und GREENFIELD (152) meinen allerdings: "... uncertainties of fecal flow and bacterial sterol metabolism made fecal data difficult to interpret and led to the subsequent use of markers for these variables ...". Untersuchungen der Kinetik scheinen also der "balance technique" überlegen zu sein. Alternativ wäre noch eine Synthesebestimmung mittels Cholesterolumsatzmessungen denkbar, wobei jedoch das Vorhandensein mehrerer Kompartimente stören soll (152).

Eine Kinetikmessung mittels Isotopenverdünnungstechnik durch Ableitung der sezernierten Galle über eine Fistel ist aufgrund der Invasivität und der Veränderung bzw. Unterbrechung der EHC bei hierdurch modifizierter Synthese nicht sicher aussagefähig, wie schon LINDSTEDT beschreibt: "... it is not possible to reach a correct figure for dayly production of bile acids by measuring the excretion in a bile fistula or the recovery in duodenal drainage" (113). Entsprechendes gilt für die Messung der Poolgrößen via Fistel oder Drainage (35,37).

8 ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde die Kinetik der beiden in der menschlichen Leber neusynthetisierten Gallensäuren, Cholsäure und Chenodeoxycholsäure. Nach oraler Applikation nichtradioaktiver stabil markierter Cholsäure und Chenodeoxycholsäure zugleich ließen sich durch mehrfache konsekutive Probenabnahmen unter Verwendung der Isotopenverdünnungsmethode die Größe des im menschlichen Körper vorhandenen Pools dieser beiden Gallensäuren, deren Umsatzrate und Synthese quantifizieren. Die Ergebnisse herkömmlicher Technik der Untersuchung in Galleproben wurden verglichen mit denen aus simultan gewonnen venösen Blutproben. Um einerseits die nicht strahlenbelastenden stabilen Markersubstanzen verwenden zu können, andererseits auch die Isotopenverdünnung in menschlichem Blut bzw. Serum messen zu können, welches Gallensäuren in äußerst geringen Konzentrationen enthält, war neben spezieller Probenverarbeitung eine kombinierte gaschromatographisch-massenspektrometrische Messung der beiden Gallensäuren und des Isotopenanteiles aus jeder Probe notwendig. Um eine klinische Anwendbarkeit dieser neuen Untersuchungstechnik zu ermöglichen, wurden die Serum-Galle-Vergleiche nicht nur bei gesunden Probanden sondern auch bei Patienten durchgeführt, die Veränderungen der Leberfunktion oder der Gallenwege aufweisen. Zur Verständlichkeit der untersuchten Gallensäurekinetiken wurden Stoffwechsel und enterohepatische Zirkulation von Cholsäure und Chenodeoxycholsäure erläutert, deren Übertritt ("spill over") in den Blutkreislauf geschildert sowie das Prinzip von Kinetik-Messungen beschrieben.

Die gleichzeitige Untersuchung der Kinetik von Cholsäure und Chenodeoxycholsäure wurde bei acht Probanden (drei Gesunde, fünf Patienten) durchgeführt und mit Ergebnissen aus simulta-

nen Galleproben verglichen. Außer bei einer gesunden Probandin und lediglich für die Cholsäure-Umsatzrate ließen sich mittels der geschilderten Technik bei allen acht Versuchspersonen aus den Serumuntersuchungen Ergebnisse ermitteln, die mit den aus Galleproben gefundenen Werten sehr gut übereinstimmten, und zwar sowohl für die Umsatzrate als auch für Poolgröße und Syntheserate beider Gallensäuren.

Die verwendete Untersuchungstechnik und ihre Anwendbarkeit wurde diskutiert, die hier ermittelten Ergebnisse wurden verglichen mit denen ähnlicher Arbeiten, wobei sich eine gute Einordnung auch in veröffentlichte Resultate herkömmlicher Methodik zeigte. Hinsichtlich der hier untersuchten Patienten wurden Veränderungen des Stoffwechsels primärer Gallensäuren insbesondere bei Cholestase und Leberzirrhose hervorgehoben, was auch in Hinblick auf künftige Anwendungsbereiche der hier vorgestellten Technik geschah.

Die Ergebnisse ermöglichen den Schluß, daß die belastende herkömmliche Untersuchungsmethode der Galleabnahmen und/oder der Verwendung radioaktiver Marker ersetzt werden kann durch Kinetikmessung in Serum, welches wesentlich einfacher zu gewinnen ist, und zwar erscheint dies nicht nur bei Gesunden möglich sondern auch bei Patienten mit den hier vorgestellten Erkrankungen. Die Verwendung nichtradioaktiver Marker vermeidet dabei Strahlenbelastung und erlaubt ethisch verantwortbare breite und auch mehrfache Kinetikuntersuchungen. Die gleichzeitige Erfassung wichtiger Stoffwechselfparameter beider primärer menschlicher Gallensäuren in vivo kann Aufschlüsse über wichtige Funktionszustände von Leber, Gallenwegen und Darm ergeben und hierdurch klinische Relevanz erhalten.

9 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) AHLBERG J, B ANGELIN, I BJÖRKHEM, and K EINARSSON: Individual bile acids in portal venous and systemic blood of fasting man. *Gastroenterology* 73: 1377-1382, 1977
- (2) ALDINI R, A RODA, AMM LABATE, G CAPPELLERI, E RODA, and L BARBARA: Hepatic bile acid uptake: effect of conjugation, hydroxyl and keto groups, and albumin binding. *J Lipid Res* 23: 1167-1173, 1982
- (3) ALMÉ B, A BREMMELGAARD, J SJÖVALL, and P THOMASSEN: Analysis of metabolic profiles of bile acids in urine using a lipophilic anion-exchanger and computerized gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *J Lipid Res* 18: 339-362, 1977
- (4) ALMOND HR, ZR VLAHCEVIC, CC BELL, jr., DH GREGORY, and L SWELL: Bile acid pools, kinetics and biliary lipid composition before and after cholecystectomy. *N Engl J Med* 289: 1213-1216, 1973
- (5) ANGELIN B, K EINARSSON, and K HELLSTRÖM: Evidence for the absorption of bile acids in the proximal small intestine of normo- and hyperlipidaemic subjects. *Gut* 17: 420-425, 1976
- (6) ANGELIN B and I BJÖRKHEM: Postprandial serum bile acids in healthy man. Evidence for differences in absorptive pattern between individual bile acids. *Gut* 18: 606-609, 1977
- (7) ASHKIN JR, DT LYON, SD SHULL, CI WAGNER, and RD SOLOWAY: Factors affecting delivery of bile to the duodenum in man. *Gastroenterology* 74: 560-565, 1978
- (8) AXELSON M, T CRONHOLM, T CURSTEDT, R REIMENDAL, J SJÖVALL: Quantitative analysis of unlabelled and polydeuterated compounds by gas chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia* 7: 502-509, 1974
- (9) BACK P, K SPACZYNSKI and W GEROK: Bile-salt glucuronides in urine. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 355: 749-752, 1974
- (10) BALISTRERI WF, AE COWEN, AF HOFMANN, PA SZCZEPANIK, and PD KLEIN: Validation of use of 11,12-³H-labeled chenodeoxycholic acid in isotope dilution measurements of bile acid kinetics in man. *Pediatr Res* 9: 757-760, 1975
- (11) BARNES S, JH SIEGEL: Bile acids in portal blood. (Letter to the editor). *Gastroenterology* 74: 964-965, 1978
- (12) BEHER WT: Bile acids. Chemistry and physiology of bile acids and their influence on atherosclerosis. Monographs on atherosclerosis. Vol 6, Eds.: D KRITCHEVSKY, OJ POLLAK, HS SIMMS. Basel, München, Paris, London, New York, Sydney: S. Karger, 1976

- (13) BELL CC, jr., HR ALMOND, ZR VLAHCEVIC, DH GREGORY, and L SWELL: The effect of cholecystectomy on bile acid pool size, kinetics, and biliary lipid composition in patients with cholesterol gallstones. (Abstr.) Gastroenterology 64: A-193/879, 1973
- (14) BERGE-HENEGOUWEN GP van, K-H BRANDT, H EYSSSEN, and G PARMENTIER: Sulphated and unsulphated bile acids in serum, bile, and urine of patients with cholestasis. Gut 17: 861-869, 1976
- (15) BERGE-HENEGOUWEN GP van and AF HOFMANN: Pharmacology of chenodeoxycholic acid. II. Absorption and metabolism. Gastroenterology 73: 300-309, 1977
- (16) BERGES W, U BAUMGÄRTNER, J BAUM, B ULRICH, J ERCKENBRECHT, M WIENBECK: Does postoperative gastric intubation promote gastro-oesophageal reflux? (Digestive disease week, Washington 1983), zit.n.Dt. Ärzteblatt 81: 806, 1984
- (17) BERGMANN K von, HR SCHULTHEISS, G PAUMGARTNER und R PREISIG: Die Konjugation von Chenodesoxycholsäure und Cholsäure während einer Leberpassage. Schweiz med Wschr 105: 413-415, 1975
- (18) BERGSTROM S and H DANIELSSON: On the regulation of bile acid formation in the rat liver. Acta Physiol Scand 43: 1-7, 1958
- (19) BERGSTROM S, R RYHAGE, E STENHAGEN: Mass spectrometric studies on bile acids and other steroid derivatives. Acta Chem Scand 12: 1349- 1358, 1958
- (20) BERGSTROM S, H DANIELSSON: Formation and metabolism of bile acids. In: Handbook of Physiology, Sect 6, Alimentary Canal, Vol V Biliary System, Section Eds.: MB VISSCHER, AB HASTINGS, JR PAPPENHEIMER, H RAHN, Am Physiol Society, Washington D.C., pp 2391-2408, 1968
- (21) BLITZER BL and JL BOYER: Cellular mechanisms of bile formation. Gastroenterology 82: 346-357, 1982
- (22) BLUM M and N SPRITZ: The metabolism of intravenously injected isotopic cholic acid in Laennec's cirrhosis. J Clin Invest 45: 187-193, 1966
- (23) BOREL G-A, and P MAGNENAT: The clearance of a tracer dose of cholic acid in liver cirrhosis. Helv med Acta 37: 129-135, 1973
- (24) BOREL G-A, R LEMP, T DIALLO and P MAGNENAT: Cholic acid clearance in normal subjects and in patients with liver disease. Helv med Acta 37: 201-207, 1973
- (25) BREMMELGAARD A and J SJÖVALL: Bile acid profiles in urine of patients with liver disease. Eur J Clin Invest 9: 341-348, 1979
- (26) CAMPBELL IM: Incorporation and dilution values - their calculation in mass spectrally assayed stable isotope labeling experiments. Bioorg Chem 3: 386-397, 1974

- (27) CAREY MC: The enterohepatic circulation. In: ARIAS I, H POPPER, D SCHACHTER, DA SHAFRITZ: The Liver. Biology and Pathobiology, New York: Raven Press, pp 429-465, 1982
- (28) CLOUSE RE, IH ROSENBERG: Intensive nutritional support. In: Gastrointestinal disease, ed. by MH SLEISENGER, JS FORDTRAN, 3rd Edition, Philadelphia, London, ...: Saunders, p. 1839, 1983
- (29) COWEN AE, MG KORMAN, AF HOFMANN, and PJ THOMAS: Plasma disappearance of radioactivity after intravenous injection of labeled bile acids in man. Gastroenterology 68: 1567-1573, 1975
- (30) DANZINGER RG, AF HOFMANN, LJ SCHOENFIELD, and OW BERNGRUBER, PA SZCZEPANIK, and PD KLEIN: Measurement of bile acid kinetics in man using stable isotopes: application to cholelithiasis. (Abstr.) Gastroenterology 60: 192, 1971
- (31) DANZINGER RG, AF HOFMANN, JL THISTLE, and LJ SCHOENFIELD: Effect of oral chenodeoxycholic acid on bile acid kinetics and biliary lipid composition in women with cholelithiasis. J Clin Invest 52: 2809-2821, 1973
- (32) DANZINGER RG, M NAKAGAKI, AF HOFMANN, and EB LJUNGWE: Differing effects of hydroxy-7- oxotaurine-conjugated bile acids on bile flow and biliary lipid secretion in dogs. Am J Physiol 246 (Gastrointest Liver Physiol 9) G 166 - G 172, 1984
- (33) DeMARK BR, GT EVERSON, PD KLEIN, RB SHOWALTER, and F KERN jr: A method for the accurate measurement of isotope ratios of chenodeoxycholic and cholic acids in serum. J Lipid Res 23: 204-210, 1982
- (34) DOLLINGER HC, R BERZ, S RAPTIS, Th von UEXKÜLL and H GOEBELL: Effects of secretin and cholecystokinin on motor activity of human jejunum. A radiotelemetering study of jejunal motility during secretin and cholecystokinin intravenous infusion. Digestion 12: 9-16, 1975
- (35) DOWLING RH, E MACK, J PICOTT, J BERGER, and DM SMALL: Experimental model for the study of the enterohepatic circulation of bile in rhesus monkey. J Lab Clin Med 72: 169-176, 1968
- (36) DOWLING RH: The enterohepatic circulation. Gastroenterology 62: 122-140, 1972
- (37) DOWLING RH, E MACK, and DM SMALL with J PICOTT: Effects of controlled interruption of the enterohepatic circulation of bile salts by biliary diversion and by ileal resection on bile salt secretion, synthesis, and pool size in the rhesus monkey. J Clin Invest 49: 232-242, 1970
- (38) DUANE WC, ML GILBERSTADT, and DM WIEGAND: Diurnal rhythms of bile acid production in the rat. Am J Physiol: Regulatory Integrative Comp Physiol 5(2) or Am J Physiol 236: R 175 - R 179, 1979

- (39) DYKE RW Van, JE STEPHENS, and BF SCHARSCHMIDT: Bile acid transport in cultured rat hepatocytes. *Am J Physiol* 243 (Gastrointest Liver Physiol): G 484 - G 492, 1982
- (40) EINARSSON K, K HELLSTRÖM, T SCHERSTÉN: The formation of bile acids in patients with portal liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 10: 299-304, 1975
- (41) EINARSSON K, SM GRUNDY, and WGM HARDISON: Enterohepatic circulation rates of cholic acid and chenodeoxycholic acid in man. *Gut* 20: 1078-1082, 1979
- (42) EISENBURG J: Physiologie der Leber. In: *Physiologie des Menschen Bd 9 Leber*, Hrsg von OH GAUER, K KRAMER, R JUNG, München, Wien, Baltimore: Urban & Schwarzenberg, pp1-98, 1978
- (43) ELLIOTT WH: Mass spectra of bile acids. In: *Biochemical applications of mass spectrometry, first supplementary volume*, ed. by GR WALLER and OC DERMER, New York, Chichester, Brisbane, Toronto: Wiley, pp 229-253, 1980
- (44) ENEFOTH P, B GORDON, R RYHAGE, and J SJÖVALL: Identification of mono- and dihydroxy bile acids in human feces by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *J Lipid Res* 7: 511-523, 1966
- (45) ENGELKING LR, CA DASHER, BI HIRSCHOWITZ, JG SPENNEY, RG GIBSON, DC NAFTEL: A serum determination of bile acid pool size and turnover in patients with liver disease. (Abstr.) *Gastroenterology* 72: 1175, 1977
- (46) ENGELKING LR, S BARNES, BI HIRSCHOWITZ, CA DASHER, JG SPENNEY and D NAFTEL: Determination of the pool size and synthesis rate of bile acids by measurements in blood of patients with liver disease. *Clin Sci* 58: 485-492, 1980
- (47) ERLINGER S: Hepatocyte bile secretion: Current views and controversies. *Hepatology* 1: 352-359, 1981
- (48) ERLINGER S: Gallensäuren-Transport in der Leber: Die Rolle der Konjugation. *Literatur-Schnelldienst Hepatologie (Falk) III: XI-XIV*, 1982
- (49) EVERSON GT, DZ BRAVERMAN, ML JOHNSON, and F KERN, jr.: A critical evaluation of real-time ultrasonography for the study of gallbladder volume and contraction. *Gastroenterology* 79: 40-46, 1980
- (50) EVERSON G, B DeMARK, P KLEIN, R SHOWALTER, C MCKINLEY, F KERN jr: Measurement of cholic acid (CA) kinetics with ¹³C-CA using serum: Validation of a method. (Abstr.) *Gastroenterology* 80: 114, 1981
- (51) EVERSON G, D HACHEY, P KLEIN, R SHOWALTER, C MCKINLEY, F KERN, jr.: Simultaneous serum and biliary chenodeoxycholic (CDC) kinetics using ¹³C-CDC. (Abstr.) *Gastroenterology* 82: 1051, 1982

- (52) EVERSON GT: A dual stable isotope technique for measuring serum bile acid kinetics in healthy man. (Abstr.) VIII Int. Bile Acid Meeting, Berne, 1984
- (53) EVERSON GT, P FENNESSEY: A significant advance in the measurement of chenodeoxycholic acid (CDCA) kinetics in healthy man: A double label stable isotope technique using serum. (Abstr.) Gastroenterology 86: 1071, 1984
- (54) EWERTH S, I BJÖRKHEM, K EINARSSON, and L ÖST: Lymphatic transport of bile acids in man. *J Lipid Res* 23: 1183-1186, 1982
- (55) EWERTH S, B ANGELIN, K EINARSSON, K NILSELL, and I BJÖRKHEM: Serum concentrations of ursodeoxycholic acid in portal venous and systemic venous blood of fasting humans as determined by isotope dilution - mass spectrometry. *Gastroenterology* 88: 126-133, 1985
- (56) FLOCH MH, W GERSHENGOREN, S ELLIOT, and HM SPIRO: Bile acid inhibition of the intestinal microflora - A function for simple bile acids? *Gastroenterology* 61: 228-233, 1971
- (57) FORKER EL and B LUXON: Hepatic transport kinetics and plasma disappearance curves: distributed modeling versus conventional approach. *Am J Physiol* 235: E648-E660 (or *Am J Physiol: Endocrinol Metab Gastrointest Physiol* 4: E648-E660), 1978
- (58) FORKER EL and BA LUXON: Albumin helps mediate removal of taurocholate by rat liver. *J Clin Invest* 67: 1517-1522, 1981
- (59) FORKER EL and BA LUXON: Hepatic transport kinetics: effect of anatomic and metabolic heterogeneity on estimates of the average transfer coefficients. *Am J Physiol* 243 (Gastrointest Liver Physiol): G532-540, 1982
- (60) FRÖHLING W and A STIEHL: Bile salt glucuronides: Identification and quantitative analysis in the urine of patients with cholestasis. *Eur J Clin Invest* 6: 67-74, 1976
- (61) FUJISAWA K, T KITAHARA, K OGURA, N KURIHARA and H KAMEDA: Studies on the metabolic fate of chenodeoxycholic acid in human. (Abstr.) *Gastroenterology* 79: 1105, 1980
- (62) GALEAZZI R, E KOK, and N JAVITT: Gas-liquid chromatography of bile acids: a new liquid phase for both acetate and trimethylsilyl derivatives. *J Lipid Res* 17: 288-290, 1976
- (63) GANONG WF: *Lehrbuch der Medizinischen Physiologie*, übers. von W AUERSWALD; 3. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1974
- (64) GARBUIT JT, L LACK, MP TYOR: The enterohepatic circulation of bile salts in gastrointestinal disorders. *Am J Med* 51: 627-636, 1971
- (65) GILMORE IT and RPH THOMPSON: Plasma clearance of oral and intravenous cholic acid in subjects with and without chronic liver disease. *Gut* 21: 123-127, 1980

- (66) GLASINOVIC J-C, M DUMONT, M DUVAL, and S ERLINGER: Hepatocellular uptake of taurocholate in the dog. *J Clin Invest* 55: 419-426, 1975
- (67) GRUNDY SM and EH AHRENS, jr.: Measurements of cholesterol turnover, synthesis, and absorption in man, carried out by isotope kinetic and sterol balance methods. *J Lipid Res* 10: 91-107, 1969
- (68) HANDELSMAN B, G BONORRIS, JW MARKS, and LJ SCHOENFIELD: Enrichment of bile with tauroursodeoxycholic acid and biliary cholesterol saturation in hamsters. *Am J Physiol* 243 (Gastrointest Liver Physiol): G424-G427, 1982
- (69) HANSON RF, PD KLEIN, and GC WILLIAMS: Bile acid formation in man: metabolism of 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one in bile fistula patients. *J Lipid Res* 14: 50-53, 1973
- (70) HANSON RF, and JM PRIES: Synthesis and enterohepatic circulation of bile salts. *Gastroenterology* 73: 611-618, 1977
- (71) HARDISON WGM and SM GRUNDY: Effect of bile acid conjugation pattern on bile acid metabolism in normal humans. *Gastroenterology* 84: 617-620, 1983
- (72) HEATON KW: The importance of keeping bile salts in their place. *Gut* 10: 857-863, 1969
- (73) HEPNER GW, AF HOFMANN, and PJ THOMAS: Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man. I. Cholyglycine. *J Clin Invest* 51: 1889-1897, 1972
- (74) HEPNER GW, AF HOFMANN, and PJ THOMAS: Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man. II. Glycine-conjugated dihydroxy bile acids. *J Clin Invest* 51: 1898-1905, 1972
- (75) HEPNER GW, AF HOFMANN, PD KLEIN: Altered bile acid metabolism in cholecystectomized patients. (Abstr.) *Gastroenterology* 64: 165, 1973
- (76) HEPNER GW, and SH QUARFORDT: Kinetics of cholesterol and bile acids in patients with cholesterol cholelithiasis. *Gastroenterology* 69: 318-325, 1975
- (77) HOFMANN AF, PA SZCZEPANIK, and PD KLEIN: Rapid preparation of tritium-labeled bile acids by enolic exchange on basic alumina containing tritiated water. *J Lipid Res* 9: 707-713, 1968
- (78) HOFMANN AF, and NE HOFFMAN: Measurement of bile acid kinetics by isotope dilution in man. *Gastroenterology* 67: 314-323, 1974
- (79) HOFMANN AF: The enterohepatic circulation of bile acids in man. In: *Advances in Internal Medicine*, ed. by GH STOLLERMAN. Chicago, III.: Year Book Medical Publishers, pp 501-534, 1976
- (80) HOFMANN AF: The enterohepatic circulation of bile acids in man. *Clin Gastroenterol* 6: 3-24, 1977

- (81) HOFMANN AF: The enterohepatic circulation of bile acids in health and disease. In: *Gastrointestinal Disease*, ed. by MH SLEISENGER, JS FORDTRAN, 3rd edition, Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo: Saunders, pp 115-129, 1983
- (82) HOFMANN AF, G MOLINO, M MILANESE, G BELFORTE: Description and simulation of a physiological pharmacokinetic model for the metabolism and enterohepatic circulation of bile acids in man. Cholic acid in healthy man. *J Clin Invest* 71: 1003-1022, 1983
- (83) HOLZBACH RT and M MARSH: Total bile acids in portal venous serum: a qualitative and quantitative assessment. (Abstr.) *Gastroenterology* 73: A27/1225, 1977
- (84) HOLZBACH RT: Pathogenesis and medical treatment of gallstones. In: *Gastrointestinal Disease*, ed. by MH SLEISENGER, JS FORDTRAN, 3rd edition, Philadelphia, London, ...: Saunders, pp 1356-1373, 1983
- (85) HOPPE-SEYLER F: Ueber die Schicksale der Galle im Darmkanale. I. Gallenbestandteile in den Excrementen der Hunde, Rinder und Vögel. (Virchow's) *Archiv für Pathologische Anatomie und für Klinische Medizin* 26: 519-537, 1863
- (86) HORAK W, R WALDRAM, IM MURRAY-LYON, E SCHUSTER, and R WILLIAMS: Kinetics of (¹⁴C)cholic acid in fulminant hepatic failure: A prognostic test. *Gastroenterology* 71: 809-813, 1976
- (87) HUIJGHEBAERT S and AF HOFMANN: A biological explanation for the specificity of amino acids used for bile acid conjugation. (Abstr.) VIII Int. Bile Acid Meeting, Berne, 1984
- (88) ISER JH and SALI A: Chenodeoxycholic acid: A review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs* 21: 90-119, 1981
- (89) JAVITT NB: The cholestatic syndrome- 1971. *Am J Med* 51: 637-641, 1971
- (90) JAVITT NB: Hepatic Bile Formation. (Two parts). *N Engl J Med* 295: 1464-1469 and 1511-1516, 1976
- (91) JOSEPHSON B: The circulation of the bile acids in connection with their production, conjugation and excretion. *Physiol Rev* 21: 463-486, 1941
- (92) KARLAGANIS G and G PAUMGARTNER: Analysis of bile acids in serum and bile by capillary gas-liquid chromatography. *J Lipid Res* 19: 771-774, 1978
- (93) KARLAGANIS G and G PAUMGARTNER: Determination of bile acids in serum by capillary gas-liquid chromatography. *Clin Chim Acta* 92: 19-26, 1979
- (94) KARLAGANIS G, RP SCHWARZENBACH, and G PAUMGARTNER: Analysis of serum bile acids by capillary gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *J Lipid Res* 21: 377-381, 1980

- (95) KEMPEN HJM, MPM VOS-VAN HOLSTEIN, and J de LANGE: Bile acids and lipids in isolated rat hepatocytes: content, synthesis, and release, as affected by cholestyramine treatment of the donor rats. *J Lipid Res* 23: 823-830, 1982
- (96) KEMPEN HJ, M V-v HOLSTEIN, and J de LANGE: Bile acids and lipids in isolated rat hepatocytes. II. Source of cholesterol used for bile acid formation, estimated by incorporation of tritium from tritiated water, and by the effect of ML-236B. *J Lipid Res* 24: 316-323, 1983
- (97) KESÄNIEMI YA, MP SALASPURO, M VUORISTO, and TA MIETTINEN: Biliary lipid secretion in chronic cholestatic liver disease. *Gut* 23: 931-938, 1982
- (98) KLEIN PD, JR HAUMANN, and WJ EISLER: Gas chromatograph-mass spectrometer-accelerating voltage alternator system for the measurement of stable isotope ratios in organic molecules. *Anal Chem* 44: 490-493, 1972
- (99) KLEIN PD, JR HAUMANN, and DL HACHEY: Stable isotope ratio meter - multiple ion detector unit for quantitative and qualitative stable isotope studies by gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 21: 1253-1257, 1975
- (100) KIMBALL A, D PERTSEMLIDIS, and D PANVELIWALLA: Composition of biliary lipids and kinetics of bile acids after cholecystectomy in man. *Dig Dis* 21: 776-781, 1976
- (101) KIRKPATRICK RB, SF ROBINSON and PG KILLENBERG: Diurnal variation of rat liver enzymes catalyzing bile acid conjugation and sulfation. *Biochim Biophys Acta* 620: 627-630, 1980
- (102) KORMAN MG, NF LaRUSSO, NE HOFFMAN and AF HOFMANN: Impaired bile acid clearance: a sensitive indicator of liver disease. (Abstr.) *Gastroenterology* 66: A-73/727, 1974
- (103) KRAG E and SF PHILLIPS: Active and passive bile acid absorption in man. Perfusion studies of the ileum and jejunum. *J Clin Invest* 53: 1686-1694, 1974
- (104) KRITCHEVSKY D and PP NAIR: Chemistry of the bile acids. In: *The Bile Acids. Chemistry, Physiology, and Metabolism. Vol I: Chemistry.* Ed. by PP NAIR and D KRITCHEVSKY. New-York, London: Plenum Press, pp1-10, 1971
- (105) KRUIS W und G PAUMGARTNER: Das Gallensäurenverlustsyndrom. *Dtsch Ärzteblatt* 79: 29-32, 1982
- (106) Langenscheidts Taschenwörterbuch der Griechischen und Deutschen Sprache, Zweiter Teil, Dt.-Griech., von O GÜTHLING, 25. Aufl., Berlin-München-Zürich: Langenscheidt, 1969
- (107) LaRUSSO NF, MG KORMAN, NE HOFFMAN, and AF HOFMANN: Dynamics of the enterohepatic circulation of bile acids. Postprandial serum concentrations of conjugates of cholic acid in health, cholecystectomized patients, and patients with bile acid malabsorption. *N Engl J Med* 291: 689-692, 1974

- (108) LaRUSSO NF, NE HOFFMAN, AF HOFMANN, TC NORTHFIELD, and JL THISTLE: Effect of primary bile acid ingestion on bile acid metabolism and biliary lipid secretion in gallstone patients. *Gastroenterology* 69: 1301-1314, 1975
- (109) LaRUSSO NF, PA SZCZEPANIK, and AF HOFMANN: Effect of deoxycholic acid ingestion on bile acid metabolism and biliary lipid secretion in normal subjects. *Gastroenterology* 72: 132-140, 1977
- (110) LEHNINGER AL: Biochemie. Übersetzt von K Fischer und E Ries. Deutsche Ausgabe, Weinheim: Verlag Chemie, pp475-476, 1975
- (111) LESTER R, JS PYREK, JM LITTLE, and EW ADCOCK: What is meant by the term "bile acid"? *Am J Physiol* 244 (Gastrointest Liver Physiol 7): G107-G110, 1983
- (112) LINDSTEDT S and A NORMAN: The turnover of bile acids in the rat. Bile acids and steroids 39. *Acta Physiol Scand* 38: 121-128, 1956
- (113) LINDSTEDT S: The turnover of cholic acid in man. Bile acids and steroids 51. *Acta Physiol Scand* 40: 1-9, 1957
- (114) LINNET K & H KELBÆK: The patterns of glycine and taurine conjugates of bile acids in serum in hepatobiliary disease. *Scand J Gastroenterol* 17:919-924, 1982
- (115) LUEY KL, and KW HEATON: Bile acid clearance in liver disease. *Gut* 20: 1083-1087, 1979
- (116) MACDONALD IA, VD BOKKENHEUSER, J WINTER, AM McLERNON, and EH MOSBACH: Degradation of steroids in the human gut. *J Lipid Res* 24: 675-700, 1983
- (117) MAKINO I, H HASHIMOTO, K SHINOZAKI, K YOSHINO, and S NAKAGAWA: Sulfated and nonsulfated bile acids in urine, serum, and bile of patients with hepatobiliary diseases. *Gastroenterology* 68: 545-553, 1975
- (118) MAKITA M and WW WELLS: Quantitative analysis of fecal bile acids by gas-liquid chromatography. *Anal Biochem* 5: 523-530, 1963
- (119) MALAGELADA JR, VLW GO, WHJ SUMMERSKILL, and WS GAMBLE: Bile acid secretion and biliary bile acid composition altered by cholecystectomy. *Dig Dis* 18: 455-459, 1973
- (120) MANNES GA, F STELLAARD, G PAUMGARTNER: Increased serum bile acids in cirrhosis with normal transaminases. *Digestion* 25: 217-221, 1982
- (121) MATERN S and W GEROK: Pathophysiology of the enterohepatic circulation of bile acids. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 85: 125-204, 1979
- (122) McCORMICK WC, CC BELL jr., L SWELL, ZR VLAHCEVIC: Cholic acid synthesis as an index of the severity of liver disease in man. *Gut* 14: 895-902, 1973

- (123) MIESCHER G, G PAUMGARTNER & R PREISIG: Portal-systemic spill-over of bile acids: a study of mechanisms using ursodeoxycholic acid.
Eur J Clin Invest 13: 439-445, 1983
- (124) MIETTINEN TA: Clinical implications of bile acid metabolism in man
In: The bile acids, chemistry, physiology, and metabolism, Volume 2: Physiology and metabolism, ed. by PP NAIR and D KRITCHEVSKY, New-York, London: Plenum Press, pp 191-247, 1973
- (125) MOSBACH EH: Hepatic synthesis of bile acids, Biochemical steps and mechanism of rate control. Arch intern med 130: 478-487, 1972
- (126) NAIR PP, C GARCIA: A modified gas-liquid chromatographic procedure for the rapid determination of bile acids in biological fluids.
Anal Biochem 29: 164-171, 1969
- (127) NIEDERAU C, G STROHMEYER: Pathophysiologie und Klinik der Cholestase. Leber Magen Darm 11: 201-214, 1981
- (128) NORLANDER A and A NORMAN: Bile acid metabolism in non-jaundiced patients with malignant liver tumours. Scand J Gastroenterol 17: 849-853, 1982
- (129) NORMAN A and B STRANDVIK: Formation and metabolism of bile acids in extrahepatic biliary atresia. J Lab Clin Med 78: 181-193, 1971
- (130) O'BRIEN JJ, EA SHAFFER, LF WILLIAMS, DM SMALL, J LYNN, and J WITTENBERG: A physiological model to study gallbladder function in primates. Gastroenterology 67: 119-125, 1974
- (131) OKISHIO T and PP NAIR: Studies on bile acids. Some observations on the intracellular localization of major bile acids in rat liver. Biochemistry 5: 3662-3668, 1966
- (132) OLIVECRONA T and J SJÖVALL: Bile acids in rat portal blood. Bile acids and steroids 77. Acta Physiol Scand 46: 284-290, 1959
- (133) O'MAILLE ERL, TG RICHARDS and AH SHORT: The influence of conjugation of cholic acid on its uptake and secretion: Hepatic extraction of taurocholate and cholate in the dog. J Physiol (Lond.) 189: 337-350, 1967
- (134) O'MAILLE ERL, MS ANWER, AF HOFMANN, EB LJUNGWE, and RG DANZINGER: Side chain charge: a key determinant of hepatic bile acid transport. (Abstr.) Gastroenterology 82: 1140, 1982
- (135) O'MAILLE ERL, SV KOZMARY, AF HOFMANN, and D GURANTZ: Differing effects of norcholate and cholate on bile flow and biliary lipid secretion in the rat. Am J Physiol 246 (Gastrointest Liver Physiol 9): G67-G71, 1984
- (136) ONUKI M, H SAITO and Y HATTA: The kinetics of bile acids in Patients with cholesterol gallstones. Japanese J Gastroenterol 79: 956-963, 1982

- (137) PALMER RH: The gallbladder and bile composition. Editorial. Dig Dis 21: 795-796, 1976
- (138) PARMENTIER G and H EYSEN: Synthesis of the specific monosulfates of cholic acid. Steroids 26: 721-729, 1975
- (139) PATTESON TE, IJI, ZR VLAHCEVIC, CC SCHWARTZ, J GUSTAFSSON, H DANIELSSON, and L SWELL: Bile acid metabolism in cirrhosis. VI. Sites of blockage in the bile acid pathways to primary bile acids. Gastroenterology 79: 620-628, 1980
- (140) PAUMGARTNER G and D PAUMGARTNER: Current concepts of bile formation. In: Progress in Liver Diseases Vol VII, ed. by H POPPER, and F SHAFFER, Grune & Stratton, pp 207-220, 1982
- (141) PAUMGARTNER G, T SAUERBRUCH: Secretion, composition and flow of bile. Clin Gastroenterol 12: 3-23, 1983
- (142) PAUMGARTNER G: Enterohepatic circulation of bile acids. Hepatology: A Festschrift for H POPPER, ed. by H BRUNNER and H THALER, New York: Raven Press, pp 329-334, 1985
- (143) PEDERSEN L and T ARNFRED: Kinetics and pool size of chenodeoxycholic acid in cholesterol gallstone patients. Scand J Gastroenterol 10: 557-560, 1975
- (144) PETTENKOFER M: Notiz über eine neue Reaction auf Galle und Zucker. Annalen der Chemie und Pharmacie 52: 90-96, 1844
- (145) PHILLIPS MJ, RL FISHER, DW ANDERSON, S-P LAN, JM LACHIN, JL BOYER, and the steering committee for the national cooperative gallstone study group: Ultrastructural evidence of intrahepatic cholestasis before and after chenodeoxycholic acid therapy in patients with cholelithiasis: the national cooperative gallstone study. Hepatology 3: 209-220, 1983
- (146) POMARE EW and KW HEATON: Increased bacterial degradation of bile salts in cholecystectomized subjects. (Abstr.) Gut 13: 321-322, 1972
- (147) POMARE EW and TS LOW-BEER: Measurement and validation of human bile salt pool size and synthesis. Clin Chim Acta 57: 239-248, 1974
- (148) PONZ DE LEON M, GM MURPHY, and RH DOWLING: Physiological factors influencing serum bile acid levels. Gut 19: 32-39, 1978
- (149) PONZ DE LEON M, P LORIA, N CARULLI, GM MURPHY, and RH DOWLING: Intestinal solubilization, absorption, pharmacokinetics and bioavailability of chenodeoxycholic acid. Eur J Clin Invest 10: 261-271, 1980
- (150) POPPER H: Cholestasis: The future of a past and present riddle. Editorial. Hepatology 1: 187-191, 1981
- (151) PRIES JM, A GUSTAFSON, D WIEGAND, and WC DUANE: Taurocholate is more potent than cholate in suppression of bile salt synthesis in the rat. J Lipid Res 24: 141-146, 1983

- (152) QUARFORDT SH and MF GREENFIELD: Estimation of cholesterol and bile acid turnover in man by kinetic analysis. *J Clin Invest* 52: 1937-1945, 1973
- (153) RAEDSCH R, BH LAUTERBURG, and AF HOFMANN: Altered bile acid metabolism in primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 26: 394-401, 1981
- (154) READ NW, MN AL JANABI, TE BATES, and DC BARBER: Effect of gastrointestinal intubation on the passage of a solid meal through the stomach and small intestine in humans. *Gastroenterology* 84: 1568-1572, 1983
- (155) REDINGER RN, JW HAWKINS, and DM GRACE: The economy of the enterohepatic circulation of bile acids in the baboon. 1. Studies of controlled enterohepatic circulation of bile acids. *J Lipid Res* 25: 428-436, 1984
- (156) REDINGER RN: The economy of the enterohepatic circulation of bile acids in the baboon. 2. Regulation of bile acid synthesis by enterohepatic circulation of bile acids. *J Lipid Res* 25: 437-447, 1984
- (157) REICHEN J and G PAUMGARTNER: Kinetics of taurocholate uptake by the perfused rat liver. *Gastroenterology* 68: 132-136, 1975
- (158) REICHEN J and G PAUMGARTNER: Uptake of bile acids by perfused rat liver. *Am J Physiol* 231: 734-742, 1976
- (159) REIMENDAL R and JB SJÖVALL: Computer evaluation of gas chromatographic - mass spectrometric analyses of steroids from biological materials. *Anal Chem* 45: 1083-1089, 1973
- (160) RODA E, R ALDINI, G MAZZELLA, A RODA, C SAMA, D FESTI, and L BARBARA: Enterohepatic circulation of bile acids after cholecystectomy. *Gut* 19: 640-649, 1978
- (161) RUDMAN D and FE KENDALL: Bile acid content of human serum. I. Serum bile acids in patients with hepatic disease. *J Clin Invest* 36: 530-542, 1957
- (162) RUTGEERTS P, Y GHOOS & G VANTRAPPEN: Kinetics of primary bile acids in patients with non-operated Crohn's disease. *Eur J Clin Invest* 12: 135-143, 1982
- (163) SACQUET E, M PARQUET, M RIOTTOT, A RAIZMAN, P JARRIGE, C HUGUET, and R INFANTE: Intestinal absorption, excretion, and biotransformation of hyodeoxycholic acid in man. *J Lipid Res* 24: 604-613, 1983
- (164) SAKAI K, T MAKINO, Y KAWAI, and M MUTAI: Intestinal microflora and bile acids. Effect of bile acids on the distribution of microflora and bile acid in the digestive tract of the rat. *Microbiol Immunol* 24: 187-196, 1980

- (165) SAMUELS AD and RH PALMER: Conversion of chenodeoxycholic acid to cholic acid in humans with obstructive jaundice. (Abstr.) Gastroenterology 64: 168, 1973
- (166) SAUERBRUCH T, F STELLAARD, G PAUMGARTNER: Effect of endoscopic sphincterotomy on bile acid pool size and bile lipid composition in man. Digestion 27: 87-92, 1983
- (167) SCHEURER U, L VARGA, E DRACK, H-R BÜRKI, and F HALTER: Measurement of cholecystokinin octapeptide-induced motility of rat antrum, pylorus, and duodenum in vitro. Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol 7) 244: G261-G265, 1983
- (168) SCHEURER U, L VARGA, E DRACK, H-R BÜRKI, and F HALTER: Mechanism of action of cholecystokinin octapeptide on rat antrum, pylorus, and duodenum. Am J Physiol 244 (Gastrointest Liver Physiol 7): G266-G272, 1983
- (169) SCHIFF M: Bericht über einige Versuchsreihen, angestellt im physiol. Laboratorium des Instituts zu F l o r e n z. I. Gallenbildung, abhängig von der Aufsaugung der Gallenstoffe. (Pflüger's) Archiv für die ges Physiologie 3: 598-613, 1870
- (170) SCHOELLER DA: A Review of the Statistical Considerations Involved in the Treatment of Isotope Dilution Calibration Data. Biomed Mass Spectrom 3: 265-271, 1976
- (171) SCHWIEGK H: Untersuchungen über die Leberdurchblutung und den Pfortaderkreislauf. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie 168: 693-714, 1932
- (172) SETCHELL KDR, AM LAWSON, EJ BLACKSTOCK and GM MURPHY: Diurnal changes in serum unconjugated bile acids in normal man. Gut 23: 637-642, 1982
- (173) SETCHELL KDR and A MATSUI: Serum bile acid analysis. Clin Chim Acta 127: 1-17, 1982
- (174) SHAFFER EA and DM SMALL: Biliary lipid secretion in cholesterol gallstone disease. The effect of cholecystectomy and obesity. J Clin Invest 59: 828-840, 1977
- (175) SJÖVALL J, P ENEROTH, and R RYHAGE: Mass spectra of bile acids. In: PP NAIR, D KRITCHEVSKY, The bile acids, Vol I, New York - London: Plenum Press, pp 209-248, 1971
- (176) SMALL DM, RH DOWLING, and RN REDINGER: The enterohepatic circulation of bile salts. Arch Intern Med 130: 552-573, 1972
- (177) SPELLMAN SJ, EA SHAFFER, and L ROSENTHAL: Gallbladder emptying in response to cholecystokinin. A cholescintigraphic study. Gastroenterology 77: 115-120, 1979
- (178) STADELMANN E: Ueber den Kreislauf der Galle im Organismus. Zeitschrift für Biologie II, 16: 1-64, 1896

- (179) STELLAARD F, T SAUERBRUCH, C BRUNHÖLZL, N SOEHENDRA, G PAUMGARTNER: Bile acid pattern and cholesterol saturation of bile after cholecystectomy and endoscopic sphincterotomy. *Digestion* 26: 153-158, 1983
- (180) STELLAARD F, R SCHUBERT and G PAUMGARTNER: Measurement of bile acid kinetics in human serum using stable isotope labeled chenodeoxycholic acid and capillary gas chromatography electron impact mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom* 10: 187-191, 1983
- (181) STELLAARD F: Die gleichzeitige Bestimmung der Poolgrößen und Syntheseraten der primären Gallensäuren mittels Kapillargaschromatographisch-Massenspektrometrischer Messung von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen in Serum nach oraler Applikation stabil markierter Gallensäuren. Inauguraldissertation an der Ludwig-Maximilians-Universität München, vorgelegt 1984
- (182) STIEHL A: Bile salt sulphates in cholestasis. *Eur J Clin Invest* 4: 50-63, 1974
- (183) STIEHL A: Gallensäuren und Gallensäurensulfate in der Haut von Patienten mit Cholestase und Juckreiz. *Z Gastroenterologie* 12: 121-124, 1974
- (184) STIEHL A: Disturbances of bile acid metabolism in cholestasis. *Clin Gastroenterol* 6: 45-67, 1977
- (185) STIEHL A, E AST, P CZYGAN, W FRÖHLING, R RAEDSCH, and B KOMMERELL: Pool size, synthesis, and turnover of sulfated and nonsulfated cholic acid and chenodeoxycholic acid in patients with cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 74: 572-577, 1978
- (186) STIEHL A, P CZYGAN and R GÖTZ: Bile acid metabolism in cholestasis. In: *Problems in Intrahepatic Cholestasis*, pp 70-74, 1979
- (187) STIEHL A, M BECKER, P CZYGAN, W FRÖHLING, B KOMMERELL, HW ROTTHAUWE: Bile acids and their sulphates and glucuronidated derivatives in bile, plasma, and urine of children with intrahepatic cholestasis: effects of phenobarbital treatment. *Eur J Clin Invest* 10: 307-316, 1980
- (188) STRANDVIK B: Bile acid metabolism in cholestasis of infancy. *Akademisk Avhandling, Stockholm* 1973
- (189) STRANDVIK B and S-A WIKSTRÖM: Tetrahydroxylated bile acids in healthy human newborns. *Eur J Clin Invest* 12: 301-305, 1982
- (190) STREET JM, DJH TRAFFORD, and HLJ MAKIN: The quantitative estimation of bile acids and their conjugates in human biological fluids. *J Lipid Res* 24: 491-511, 1983
- (191) SUMMERFIELD JA, CHL SHACKLETON, and BH BILLING: An alternative pathway for bile acid metabolism in cholestasis involving 6 α -hydroxylation. (Abstr.) *Gut* 16: 393, 1975

- (192) SUMMERFIELD JA, BH BILLING and CHL SHACKLETON: Identification of bile acids in the serum and urine in cholestasis. Evidence for 6 α -hydroxylation of bile acids in man. *Biochem J* 154: 507-516, 1976
- (193) SUMMERFIELD JA, J CULLEN, S BARNES and BH BILLING: Evidence for renal control of urinary excretion of bile acids and bile acid sulphates in the cholestatic syndrome. *Clin Sci Mol Med* 52: 51-65, 1977
- (194) SUMMERFIELD JA, J SCOTT, M BERMAN, C GHENT, JR BLOOMER, PD BERK, and S SHERLOCK: Benign recurrent intrahepatic cholestasis: studies of bilirubin kinetics, bile acids, and cholangiography. *Gut* 21: 154-160, 1980
- (195) SWELL L, J GUSTAFSSON, H DANIELSSON, CC SCHWARTZ, LG HALLORAN, and ZR VLAHCEVIC: Bile acid synthesis in humans. *Cancer Res* 41: 3757-3758, 1981
- (196) SZCZEPANIK PA, DL HACHEY, and PD KLEIN: Evaluation of Poly S-179 as a stationary phase for the gas-liquid chromatography-mass spectrometry of bile acid methyl ester acetates. *J Lipid Res* 19: 280-283, 1978
- (197) TABAQCHALI S: The pathophysiological role of small intestinal bacterial flora. *Scand J Gastroent; Suppl* 6, 139-163, 1970
- (198) TATEYAMA T, Y NEZU, M SHITO, K SAKAGUCHI, K KATAYAMA, and J TSUTSUMI: Studies on metabolic fate of chenodeoxycholic acid in man. *Proc. of third meeting of Japanese Society for Medical Mass Spectrometry*, pp 207-214, 1978
- (199) THORNTON JR and KW HEATON: Effects of lactulose on bile composition. In: *Bile acids and lipids*, Falk Symposium 29, ed. by G PAUMGARTNER, A STIEHL, W GEROK, Lancaster: MTP Press, pp 181-185, 1981
- (200) THUREBORN E: Human hepatic bile. Composition changes due to altered enterohepatic circulation. *Acta Chirurgica Scandinavica, Suppl* 303, pp 5-63, 1962
- (201) TSCHERNOFF W: Ueber Absorbierung des Fettes durch Erwachsene und Kinder während fieberhafter und fieberfreier Erkrankungen. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und Klinische Medizin* 98: 231-293, 1884
- (202) TURUNEN MJ, EO KIVILAAKSO: Increased risk of colorectal cancer after cholecystectomy. *Ann Surg* 194: 639-641, 1981
- (203) VANTRAPPEN G, P RUTGEERTS, and Y GHOOS: A new method for the measurement of bile acid turnover and pool size by a double label, single intubation technique. *J Lipid Res* 22: 528-531, 1981
- (204) VLAHCEVIC ZR, CC BELL, I BUHAC, JT FARRAR, and L SWELL: Diminished bile acid pool size in patients with gallstones. *Gastroenterology* 59: 165-173, 1970

- (205) VLAHCEVIC ZR, I BUHAC, JT FARRAT, CC BELL, jr., and L SWELL: Bile acid metabolism in patients with cirrhosis. I. Kinetic aspects of cholic acid metabolism. *Gastroenterology* 60: 491-498, 1971
- (206) VLAHCEVIC ZR, JR MILLER, JT FARRAT, and L SWELL: Kinetics and pool size of primary bile acids in man. *Gastroenterology* 61: 85-90, 1971
- (207) VLAHCEVIC ZR, P JUTTIJUDATA, CC BELL, and L SWELL: Bile acid metabolism in patients with cirrhosis. II. Cholic and chenodeoxycholic acid metabolism. *Gastroenterology* 62: 1174-1181, 1972
- (208) VLAHCEVIC ZR, MF PRUGH, DH GREGORY, L SWELL: Disturbances of bile acid metabolism in parenchymal liver disease. *Clin Gastroenterol* 6: 25-43, 1977
- (209) VLAHCEVIC ZR, CC SCHWARTZ, J GUSTAFSSON, LG HALLORAN, H DANIELSSON, and L SWELL: Biosynthesis of bile acids in man. Multiple pathways to cholic acid and chenodeoxycholic acid. *J Biol Chem* 255: 2925-2933, 1980
- (210) WATKINS JB, D INGALL, P SZCZEPANIK, PD KLEIN, and R LESTER: Bile-salt metabolism in the newborn. Measurement of pool size and synthesis by stable isotope technic. *N Engl J Med* 288: 431-434, 1973
- (211) WATKINS JB, JA PERMAN: Bile acid metabolism in infants and children. *Clin Gastroenterol* 6: 201-218, 1977
- (212) WERF SDJ VAN DER: Deoxycholate metabolism in man. With special reference to colonic carcinogenesis. Proefschrift. Nijmegen, 1982
- (213) WETTERER E: Bau und Funktionen des Gefäßsystems In: *Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie*, Hrsg. von WD KEIDEL, 4. Aufl., Stuttgart: Thieme, pp 6-39, 1975
- (214) WHEELER HO: Secretion of bile acids by the liver and their role in the formation of hepatic bile. (Symposium on bile acids). *Arch Intern Med* 130: 533-541, 1972
- (215) WHITING MJ and J McK WATTS: Prediction of the bile acid composition of bile from serum bile acid analysis during gallstone dissolution therapy. *Gastroenterology* 78: 220-225, 1980
- (216) WIELAND H und G REVEREY: Untersuchungen über die Gallensäuren. XXI. Mitteilung. Zur Kenntnis der menschlichen Galle. 1. *Hoppe-Seyler's Z physiol Chemie* 140: 186-202, 1924
- (217) WILLETT WC, and B MacMAHON: Diet and cancer - an overview (Two parts). *N Engl J Med* 310: 633-638, 697-703, 1984
- (218) WILLIAMS CN, R KAYE, L BAKER, R HURWITZ, and JR SENIOR: Progressive familial cholestatic cirrhosis and bile acid metabolism. *J Pediat* 81: 493-500, 1972
- (219) WILSON FA: Intestinal transport of bile acids. *Am J Physiol* 241 (Gastrointest Liver Physiol 4):G83-G92, 1981

- (220) Wörterbuch der Medizin, 5., überarb. und erw. Aufl., hrsg. von
H SCHALDACH, Bd.1, Stuttgart und München: Dt. Taschenb.-Verlag,
Thieme Verlag, 1974
- (221) YOUSEF IM, MM FISHER: Bile acid metabolism in mammals: IX. Conversion
of chenodeoxycholic acid to cholic acid by isolated perfused
rat liver. *Lipids* 10: 571-573, 1975
- (222) ZOUBOULIS-VAFIADIS I, M DUMONT, and S ERLINGER: Conjugation is rate
limiting in hepatic transport of ursodeoxycholate in the rat.
Am J Physiol 243 (Gastrointest Liver Physiol 6):G208-G213, 1982

DANKWORT

Für die stets wohlwollende, großzügige Unterstützung von Herrn Professor Dr. G. Paumgartner, der nicht nur mein Interesse an der Thematik weckte sondern auch seine Erfahrung vermittelte, Arbeitsmöglichkeit in seinem Labor zur Verfügung stellte und diese Arbeit ermöglichte, möchte ich mich bei ihm als meinem wissenschaftlichen und klinischen Lehrer bedanken. Herr Professor Dr. T. Sauerbruch betreute in immer geduldiger und liebevoller Weise meinen Einstieg in die Thematik und förderte unermüdlich den Fortgang dieser Arbeit. Herr Dipl.-Ing. F. Stellaard war nicht nur erfahrener und stets gesprächsbereiter Diskussionspartner sondern führte mich auch in die Grundlagen der hier verwendeten Bestimmungsmethoden ein. Zusammen mit Frau König, Frau Nuber und Frau Dyck war er für die praktische Durchführung unentbehrlich; darüberhinaus trug die freundliche Aufnahme im Labor nicht minder zum Gelingen dieser Arbeit bei. Von Herrn Dr. Holl durfte ich nicht nur die Technik der Duodenalsondenapplikation erlernen sondern auch humanen Umgang mit Patienten. Meine Kollegen aus der II. Medizinischen Klinik erleichterten mir hilfreich die Durchführung der Studie. Frau Neumann unterstützte die graphische Ausgestaltung in liebenswürdiger Weise; ohne die sorgfältige und unermüdliche Schreibarbeit von Frau Englmüller hätte diese Dissertationsarbeit nicht entstehen können. Voraussetzung war, nicht zuletzt, die aufmunternde und geduldige Unterstützung durch meine Frau.

LEBENS LAUF

Der Autor dieser Dissertation wurde am 18. März 1955 in München als erster von zwei Söhnen des Staatssekretärs a.D. Franz Sackmann und seiner Frau Hildegard geboren. Von 1961 bis 1965 besuchte er in Roding die Volksschule, trat 1965 an das humanistisch-neusprachliche Robert-Schuman-Gymnasium in Cham über, wo er 1974 die Reifeprüfung ablegte. Von 1974 bis 1976 studierte er in Regensburg vorklinische, von 1976 bis 1981 an der Technischen Universität in München klinische Humanmedizin. Im April 1981 absolvierte er dort den Dritten Teil der Ärztlichen Prüfung und erhielt die Approbation als Arzt. Von 1981 bis 1982 leistete er seinen Zivildienst, seit 1983 ist er als wissenschaftliche Hilfskraft bei der II. Medizinischen Klinik der Universität München unter Herrn Prof. Dr. G. Paumgartner tätig. Neben klinischer Tätigkeit auf gastroenterologisch-hepatologisch, aber auch allgemein-internistisch ausgerichteten Krankenstationen beschäftigt er sich mit hepatologischen Fragestellungen im Zusammenhang mit Leberzirrhose, Cholestase und Cholelithiasis sowie der klinischen Relevanz und Anwendbarkeit von Untersuchungen des Gallensäurestoffwechsels.

